

Faculdade de Odontologia de Piracicaba
Universidade Estadual de Campinas

Vinicius Di Hipólito

Cirurgião-Dentista

**Interação e eficiência de sistemas adesivos
contendo nanopartículas na união à dentina**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia
de Piracicaba, da Universidade Estadual de
Campinas, para obtenção do título de Doutor
em Materiais Dentários.

Orientador: Prof. Dr. Mário Fernando de Goes

PIRACICABA
2009

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**

Bibliotecária: Marilene Girello – CRB-8^a. / 6159

D569i Di Hipólito, Vinicius.
Interação e eficiência de sistemas adesivos contendo nanopartículas na união à dentina. / Vinicius Di Hipólito. -- Piracicaba, SP: [s.n.], 2009.

Orientador: Mário Fernando de Goes.
Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Materiais dentários. 2. Nanotecnologia. 3. Morfologia. I. Goes, Mário Fernando de. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título. (mg/fop)

Título em Inglês: Interaction and bond strength of nanofilled adhesives to dentin

Palavras-chave em Inglês (Keywords): 1. Dental Materials. 2. Nanotechnology. 3. Morphology.

Área de Concentração: Materiais Dentários

Titulação: Doutor em Materiais Dentários

Banca Examinadora: Mário Fernando de Goes, Luis Roberto Marcondes Martins, Marcela Rocha de Oliveira Carrilho, André Figueiredo Reis, Patrícia Nóbrega Rodrigues Pereira

Data da Defesa: 17-02-2009

Programa de Pós-Graduação em Materiais Dentários



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



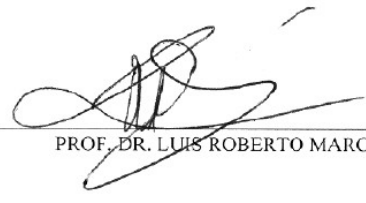
A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de DOUTORADO, em sessão pública realizada em 17 de Fevereiro de 2009, considerou o candidato VINICIUS DI HIPÓLITO aprovado.



PROF. DR. MARIO FERNANDO DE GOES



PROF. DR. ANDRÉ FIGUEIREDO REIS



PROF. DR. LUIS ROBERTO MARCONDES MARTINS



PROFa. DRa. PATRÍCIA NÓBREGA RODRIGUES PEREIRA



PROFa. DRa. MARCELA ROCHA DE OLIVEIRA CARRILHO

DEDICO ESTE TRABALHO

Aos meus pais **OSWALDO** e **ANA LÚCIA**, pelo exemplo de integridade, carinho, dedicação e constante incentivo.

À minha esposa **TALITA**, pela amizade, amor e paciência durante toda a realização deste trabalho. As dificuldades nos tornam cada vez mais unidos para alcançarmos nossos objetivos.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao meu orientador, Prof. Dr. **MÁRIO FERNANDO DE GOES**, pela confiança, oportunidades e ensinamentos transmitidos desde a Iniciação Científica.

À **DEUS**, por me conceder saúde e disposição para enfrentar todos os desafios. ELE, senhor da vida, sempre me guia, protege e mostra o melhor caminho a ser percorrido.

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, em nome do diretor Prof. Dr. **FRANCISCO HAITER NETO**.

Aos professores da Área de Materiais Dentários da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP, Prof. Dr. **SIMONIDES CONSANI**, Prof. Dr. **LOURENÇO CORRER SOBRINHO**, Prof. Dr. **MÁRIO ALEXANDRE COELHO SINHORETI** pelo empenho, respeito e dedicação.

À professora Dr^a. **REGINA MARIA PUPPIN RONTANI**, professora da Área de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP, pelos conhecimentos transmitidos durante o programa de pós-graduação.

À **CAPES** pela concessão da bolsa de estudo, que me deu a oportunidade para a realização deste curso de pós-graduação.

Aos funcionários do Laboratório de Materiais Dentários da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, **MARCOS BLANCO CANGIANI** e **SELMA APARECIDA BARBOSA SEGALLA**, pela dedicação e colaboração em todas as partes deste estudo.

Aos técnicos **ELIENE ORSINI N. ROMANI** e **ADRIANO L. MARTINS** responsáveis pelo Centro de Microscopia Eletrônica de Transmissão e Varredura da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, pela colaboração e atenção em elucidar as dúvidas surgidas.

Ao funcionário do Centro de Recursos Audiovisuais (CRA) da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, **MARCO ANTÔNIO CAVALLARI JUNIOR**, pelo auxílio nas ilustrações gráficas deste trabalho.

À bibliotecária da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, **SUELI FERREIRA J. DE OLIVEIRA**, pela solicitude em atender os nossos pedidos.

Aos meus colegas de pós-graduação, **ALBERTH, ALBERTO, AMÉRICO, ANA FLÁVIA, ANDRÉIA, CARLA, CÍNTIA, CRISTIANE, DARIO, FABÍOLA, HUGO, IAN, JÚLIO, LUCAS, LUCIANO, LUIS FELIPE, JULIANA, MARCELO MUZILLI, MARCELO OLIVEIRA, RAFAEL, RICARDO GUIRALDO, RICARDO VAZ, PAULA, SAFIRA, SANDRINE, WILLIAN e WILSON** por compartilharmos alegrias e dificuldades durante este período.

Ao colega **ANDRÉ REIS**, pela amizade e colaboração neste trabalho.

À todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste estudo.

MEUS SINCEROS AGRADECIMENTOS!!!

“Quanto mais largas vastidões abrange o saber, tanto mais razão de serem modestos os seus cultores. A circunferência visual se ensancha, à medida que a luneta do observatório alcança mais longe. Mas o observador é um ponto, que se reduz cada vez mais no centro do horizonte sensível. Muito há que alguém disse: O sábio sabe que não sabe.”

PALAVRAS À JUVENTUDE

Ruí Barbora

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de partículas inorgânicas incorporadas em adesivos sobre a resistência de união (RU) e morfologia da interação com a dentina. O esmalte oclusal de molares humanos foi removido e cada dente seccionado em quatro partes, com o auxílio de disco dupla face de diamante, montado em baixa rotação. A dentina média exposta dos dentes foi regularizada com lixa granulação 600. Todas as superfícies de dentina foram condicionadas (ácido fosfórico 35% - 15s) e cada quarto do dente tratado com um dos seguintes adesivos: Adper Single Bond (SB-3M/ESPE – sem carga), Adper Single Bond 2 (SB2-3M/ESPE - sílica coloidal, 5nm Ø), Prime & Bond NT (NT-Dentsply - sílica coloidal, 7-40nm Ø) e OptiBond Solo (OS-Kerr Corp - aluminoborosilicate de bário, 400nm Ø). Um bloco de resina composta (Filtek Z350 3M/ESPE) foi construído sobre cada superfície tratada. Após armazenagem por 24 horas em água destilada, cada conjunto dente/restauração foi seccionado nos eixos X e Y para obter espécimes em forma de palito, contendo 1mm² de área de secção transversal. A RU foi determinada em máquina de ensaio universal (Instron 4411), a uma velocidade de 0,5mm/min. Os valores de RU foram submetidos à ANOVA e teste Tukey ($\alpha=0,05$), e os padrões de fratura classificados em quatro categorias: Tipo I – fratura coesiva no adesivo, Tipo II - fratura coesiva na dentina, Tipo III - fratura coesiva na camada híbrida, Tipo IV - fratura mista: coesiva no adesivo e na camada híbrida. Vinte oito dentes adicionais foram usados para a análise morfológica em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV - 16 dentes) e Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM - 12 dentes). As superfícies de 32 discos de dentina (1,5mm de espessura) foram tratadas com cada um dos adesivos e unidas, aos pares, usando uma resina de baixa viscosidade (Filtek Flow - 3M/ESPE), para análise em SEM/EDX. Seções ultrafinas de dentina (90nm de espessura) foram obtidas de 12 dentes para o exame em TEM. O adesivo SB2 apresentou RU significativamente maior [Média (MPa) \pm SD] - (42,64 \pm 11,4) que o SB (34,6 \pm 7,6), NT (28,5 \pm 7,0) e OS (33,3 \pm 5,6). Houve predominância do padrão de fratura tipo IV para todos os adesivos. O SB2 revelou a mais baixa incidência do

padrão de fratura tipo III. As análises em SEM/EDX e TEM mostraram uma distribuição homogênea das nanopartículas (silica) em toda a extensão da camada híbrida formada pelo SB2. Partículas inorgânicas apresentaram-se aglomeradas na embocadura dos túbulos dentinários e na porção superior da camada híbrida dos adesivos OS e NT. A presença de nanopartículas entre os espaços interfibrilares da camada híbrida formada pelo SB2 exerceu influência sobre a propriedade mecânica de resistência da união à dentina.

Palavras-chave: Materiais Dentários, Nanotecnologia, Morfologia.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of fillers incorporated to adhesives on bond strength (μ TB) and interfacial morphology of dentin. Oclusal enamel of 5 human molars was removed and each tooth was sectioned in four parts using a low-speed saw. The medium dentin exposed was ground with Sic (600 grit). All dentin surfaces were etched (35% phosphoric acid - 15s) and each part of the tooth treated with one of the following adhesives: Adper Single Bond (SB-3M/ESPE - unfilled); Adper Single Bond 2 (SB2-3M/ESPE - colloidal silica, 5nm Ø); Prime & Bond NT (NT-Dentsply - colloidal silica, 7-40nm Ø) and OptiBond Solo (OS-Kerr Corp - barium aluminoborosilicate, 400nm Ø). Blocks of resin-based composite (Filtek Z350 - 3M/ESPE) were built on the adhesive surfaces. After 24 hour water storage, each part of the tooth was sectioned in X and Y directions to obtain 1mm² cross-sectional area sticks. μ TB were determined with an Instron at cross-speed of 0.5mm/min. μ TB values were submitted to ANOVA and Tukey test ($\alpha=0,05$). The fracture pattern was classified in: Type I- total cohesive failure in adhesive resin, Type II – total cohesive failure in dentin, Type III – total cohesive failure in the hybrid layer, Type IV - cohesive failure in adhesive resin and in the hybrid layer. Twenty eight additional teeth were used for interfacial morphological analyzes by SEM (16 teeth) and TEM (12 teeth). The surfaces of 32 dentine discs (1.5mm thick) were treated with each of the adhesives and bonded to form disc-pairs using a flowable resin composite (Filtek Flow -3M/ESPE) for SEM/EDX analysis. Dentin sections (90nm thick) were obtained from 12 teeth for TEM interface examination. The SB2 had significantly higher μ TB values [Mean (MPa) \pm SD] - (42.6 \pm 11.4) than SB (34.6 \pm 7.6), NT (28.5 \pm 7) and OS (33.33 \pm 5.64). There was prevalence of type IV failure pattern for all the adhesives and the SB2 revealed the lowest incidence of type III failure pattern. The SEM/EDX and TEM analysis showed the homogeneous distribution of nanofillers (silica) into interfibrillar spaces of the hybrid layer formed by SB2. Fillers were concentrated around patent tubular orifices and at the upper part of the hybrid zone for OS and NT adhesives. The presence of nanofillers within interfibrillar spaces suggests its

importance in the improvement of the tensile bond strength at the dentin-resin interface.

Key Words: Dental Materials, Nanotechnology, Morphology.

SUMÁRIO

1 - INTRODUÇÃO	01
2 - REVISÃO DA LITERATURA	05
3 - PROPOSIÇÃO	55
4 - MATERIAIS E MÉTODO	57
4.1 Coleta, Armazenamento e Preparo dos Dentes	57
4.2 Materiais Utilizados	58
4.3 Preparo dos Espécimes para a Análise da Interface de União em Microscopia Eletrônica de Varredura.....	62
4.3.1 Cobertura dos Espécimes com Liga de Ouro/Paládio e Observação em Microscopia Eletrônica de Varredura.....	67
4.3.2 Cobertura dos Espécimes com Carbono e Micro-análise mediante Espectrometria de Energia Dispersiva de Raio-X.....	68
4.4 Preparo dos Espécimes para a Análise da Interface de União em Microscopia Eletrônica de Transmissão.....	71
4.5. Avaliação da Resistência da União à Microtração.....	75
4.5.1.Obtenção dos Espécimes	75
4.5.2.Ensaio de Microtração sobre a União à Dentina.....	78
4.5.3.Preparo dos Espécimes para a Análise do Padrão de Fratura.....	82
5 – RESULTADOS	83
5.1 Caracterização Micromorfológica da Interface de União Resina/Dentina por meio de Microscopia Eletrônica Varredura.....	83
5.2 Micro-análise Qualitativa e Quantitativa das Interfaces de União Resina/Dentina por meio de Espectrometria de Energia Dispersiva de Raio-X em Microscopia Eletrônica de Varredura.....	87
5.3 Caracterização Micro-Morfológica da Interface de União Resina/Dentina através de Microscopia Eletrônica de Transmissão.....	92

5.4 Ensaio de Microtração.....	99
5.4.1 Análise do Padrão de Fratura.....	101
6 – DISCUSSÃO	107
7 – CONCLUSÃO	117
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	119
ANEXOS.....	139

1-INTRODUÇÃO

A disposição das partes que constituem a união dos sistemas adesivos contemporâneos com o tecido dentinário, apresenta natureza essencialmente micromecânica. É resultado da infiltração de monômeros resinosos no interior da matriz de colágeno da dentina desmineralizada e polimerização *in situ* (Eick *et.al.*; 1997). Esta união forma uma nova estrutura morfológica, composta pelo entrelaçamento da resina polimerizada com o substrato dentinário, denomina camada híbrida (Nakabayashi *et.al.*; 1982) ou zona de interdifusão (Van Meerbeek *et.al.*; 1992, Van Meerbeek *et.al.*; 1993).

A manutenção da matriz orgânica dentinária hidratada, após a sua desmineralização, é fundamental para preservar a integridade dos espaços interfibrilares em condição compatível com o processo de união, evitando-se o colapso das fibrilas de colágeno. Esta disposição permite infiltração dos monômeros resinosos para a formação da camada híbrida (Pashley *et.al.*; 1993, Gwinnett 1994, Titley *et.al.*; 1994, Perdigão *et.al.*; 1996). A estratégia de união, assim estabelecida, é conhecida como técnica úmida de hibridização, e está associada à infiltração de monômeros resinosos diluídos em solventes orgânicos anidros (Gwinnett 1992, Tay *et.al.*; 1996, Kanca & Sandrik 1998) e primers hidrófilos em solução aquosa (Nakabayashi *et.al.*; 1982, Carvalho *et.al.*; 1996). Alternativamente a este mecanismo de atuação, outros sistemas adotam primers autocondicionantes, em que a desmineralização da dentina e a infiltração dos monômeros resinosos ocorre simultaneamente, minimizando imperfeições técnicas (Watanabe *et.al.*; 1994a, Nakabayashi & Saimi 1996).

Quando a dentina é desprovida de sua porção mineral, em função do tratamento ácido, sobrevém uma redução significativa das propriedades mecânicas da estrutura remanescente (Sano *et.al.*; 1995), particularmente no momento em que a matriz dentinária desmineralizada permanece suspensa em meio aquoso (Maciel *et.al.*; 1996, Zhang *et.al.*; 1998). Nesta situação de fragilidade transitória, a infiltração de monômeros no interior da trama de colágeno

promove aumento na resistência do tecido dentinário remanescente. Todo processo foi demonstrado em macro-modelo experimental da camada-híbrida (Sano *et.al.*; 1995) e em um dispositivo hipotético (Pashley *et.al.*; 1995), em que encontrou-se correlação positiva entre a máxima resistência à tração da resina de sistema de união e da dentina infiltrada pelo adesivo.

A partir destas evidências, houve uma tendência em incorporar partículas inorgânicas na composição dos sistemas adesivos, tendo em vista o aumento da resistência da união à dentina. No início, as partículas de tamanho micrométrico, compostas principalmente por sílica e vidro convencional, não eram capazes de penetrar nos espaços interfibrilares da dentina desmineralizada (Van Meerbeek *et.al.*; 1996). Estes espaços são extremamente reduzidos, apresentando cerca de 20nm de diâmetro (Watanabe *et.al.*; 1994, Perdigão *et.al.*; 1996, Van Meerbeek *et.al.*; 1998). Dessa forma, as partículas inorgânicas, impossibilitadas de infiltrar entre as fibrilas de colágeno, ficavam localizadas na camada do adesivo e junto à embocadura dos túbulos dentinários, não proporcionando reforço à camada-híbrida (Van Meerbeek *et.al.*; 1996, Tay *et.al.*; 1999).

Apesar de não reforçar a camada-híbrida, a presença de carga nos sistemas de união convencionais de frasco único está relacionada ao aumento da viscosidade do material. Este expediente proporciona a formação de camada mais espessa de adesivo sobre o substrato, reduzindo os efeitos da inibição de polimerização causada pelo contato com o oxigênio (Unterbrink & Liebenberg 1999, Frankenberger *et.al.*; 2001, Gallo *et.al.*; 2001, Tam *et.al.*; 2001). Ainda, uma camada mais densa de adesivo funcionaria, teoricamente, como uma estrutura de absorção das tensões geradas pela contração de polimerização dos compósitos restauradores e preservaria a integridade da união, de modo semelhante às resinas de baixa módulo de elasticidade (Van Meerbeek *et.al.*; 1993, Armstrong *et.al.*; 2001, Montes *et.al.*; 2001, Unterbrink & Liebenberg 1999, Tam *et.al.*; 2001). No entanto, as vantagens dos adesivos com partículas inorgânicas ainda permanecem inconsistentes (Labella *et.al.*; 1999), e não comprovadas clinicamente (Swift *et.al.*; 2001).

Na seqüência progressiva do desenvolvimento dos adesivos, foi introduzido no mercado odontológico, ao final de década de 90, um sistema de união convencional de frasco único denominado Prime & Bond NT (Dentsply, Caulk, Milford, DE), contendo partículas inorgânicas de sílica coloidal com dimensões nanométricas. Mesmo com tamanho extremamente reduzido, da ordem de 7nm de diâmetro, as partículas deste sistema não eram capazes de infiltrar nos espaços interfibrilares da dentina (Tay *et.al.*; 1999). Nesta dimensão de grandeza, há uma tendência natural das partículas nanométricas se aglomerarem, formando estruturas maiores denominadas *clusters*, cujas dimensões ultrapassam às dos espaços interfibrilares (Tay *et.al.*; 1999). Esta característica impede o reforço da camada híbrida e, provavelmente, é o principal fator responsável pelo não aumento na resistência da união proposta pelo fabricante (Braga *et.al.*; 2000, Nunes *et.al.*; 2001).

Em 2005, foi lançado no mercado odontológico um sistema de união convencional de frasco único denominado Adper Single Bond 2 (3M/ESPE Dental Pruducts Division St. Paul, MN,USA). Este modelo de adesivo contém partículas inorgânicas de sílica coloidal medindo aproximadamente 5nm de diâmetro. Conforme as especificações do fabricante, não haveria o indesejável agrupamento das nanopartículas, em razão de avanços na tecnologia de tratamento de superfície dessas estruturas que proporcionariam estabilidade química, evitando, assim, a formação de aglomerados. Não agrupadas, as nanopartículas poderiam penetrar uniformemente entre os espaços das fibrilas de colágeno, aumentando as propriedades mecânicas da camada híbrida. Mediante estas informações, o presente estudo tem como objetivo analisar evidências científicas que auxiliem no entendimento da interação deste material com a dentina, bem como os seus efeitos.

2-REVISÃO DA LITERATURA

Para uma leitura mais compreensível deste capítulo, algumas considerações sobre os constituintes da dentina e suas propriedades, julgadas essenciais ao contexto, serão revistas com maior amplitude.

2.1.DENTINA

A dentina é um tecido mineralizado e compõe a maior parte do dente. Na porção coronária é coberta pelo esmalte e na raiz por cimento. O seu desenvolvimento acontece antes do esmalte e do cimento, sendo responsável pela forma do dente, delimitando o modelo da coroa, inclusive das cúspides e bordas incisais, além do número e tamanho das raízes. Apesar de sólido, é um tecido elástico, formado por uma grande quantidade de pequenos túbulos distribuídos paralelamente ao longo de uma matriz de colágeno mineralizada. O interior destes túbulos é percorrido por prolongamentos dos odontoblastos, assim como, um pequeno volume de fluido extracelular. Os corpos celulares dos odontoblastos estão localizados na porção mais profunda da dentina, determinando a margem externa da polpa dentária. Diferentemente do esmalte, a dentina é um tecido vivo, sensível, produzido durante toda a vida e aumentando de espessura no sentido centrípeto à polpa dental. Este crescimento é decorrente da presença de uma camada não mineralizada de matriz dentinária na superfície da polpa, chamada de pré-dentina (Bhaskar 1989; Berkovitz *et.al.*; 2004).

2.1.1.Propriedades físicas e mecânicas

A dentina jovem apresenta coloração amarelo-clara e se torna mais escura com o avançar da idade. Em razão da translucidez do esmalte, a dentina contribui substancialmente para o aspecto final da cor do dente. É um tecido que permite a passagem de substâncias líquidas através de suas estruturas, sendo condicionada pelo diâmetro e número de túbulos por unidade de área, uma vez que variações regionais são características da dentina. Em decorrência de sua constituição orgânica e arquitetura tubular, a dentina abriga em si a propriedade de deformação e absorção de tensões (Marshall *et.al.*; 1997). Diferentemente, o esmalte possui alto módulo de elasticidade e resistência à tração relativamente baixa, conferindo-lhe características de friabilidade (Tyldesley 1950). As forças complexas que atuam sobre o esmalte, durante a ação fisiológica da mastigação, são dissipadas em direção à dentina valendo-se da forma e natureza da junção amelo-dentinária. Esta inter-relação estrutural e física entre um tecido friável (esmalte) e um tecido resiliente (dentina), mediante a junção amelo-dentinária, proporciona ao dente um comportamento biomecânico característico em que a dentina protege o esmalte. Desta forma, os dentes são capazes de absorver e dissipar as forças provenientes da ação fisiológica da mastigação e da flutuação térmica a que a estrutura dental é submetida durante toda a vida (Ten Cate 1994).

2.1.2.Composição química

É comum a dentina apresentar em sua composição química aproximadamente 70% de matéria inorgânica, 20% de material orgânico e 10% de água em peso. Sua análise volumétrica exhibe partes proporcionais da ordem de

50% de material inorgânico, 30% de matéria orgânica e 20% de água (Marshall *et.al.*; 1997).

A análise da dentina, por meio de difração de raios-X, mostra que o componente inorgânico deste tecido consiste na hidroxiapatita, à semelhança do osso, cemento e esmalte. A hidroxiapatita, representada em sua fórmula unitária $3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot \text{Ca}(\text{OH})_2$, está organizada em cristais e cada cristal é constituído por vários milhares de unidades. Estes cristais apresentam a forma de placas e são muito menores (aproximadamente 35 X 10 X 100nm) do que os presentes no esmalte. São encontrados dentro e entre as fibrilas de colágeno na dentina mineralizada. Além dos cristais, podem ser identificadas pequenas quantidades de fosfatos, carbonatos e sulfatos (Berkovitz *et.al.*; 2004).

2.1.3. Matriz orgânica

A matriz orgânica da dentina é formada por uma rede de fibrilas de colágeno imersa em uma substância fundamental amorfa. Aproximadamente 90% da matriz é constituída por colágeno tipo I, embora outros dois tipos (III e V) também têm sido detectados na polpa em quantidades menores. Uma grande parcela destas fibrilas tem percursos paralelos à polpa dental (Butler, *et.al.*; 1997, Butler 1998).

As fibrilas de colágeno apresentam maior diâmetro (100nm) na dentina mineralizada e estão mais contiguamente agrupadas do que na pré-dentina. Apesar disto, seus feixes não exibem a mesma organização presente em outros tecidos conjuntivos não mineralizados, como nos tendões ou nos ligamentos periodontais. (Berkovitz *et.al.*; 2004, Lucchese *et.al.*; 2008) .

2.1.4.Estrutura

Como referido anteriormente, apenas os prolongamentos citoplasmáticos dos odontoblastos penetram nos túbulos dentinários. O corpo celular permanece na porção mais externa da polpa. Os túbulos percorrem a pré-dentina e a dentina mineralizada, indo em direção a junção amelodentinária e cemento. Toda dentina normal é permeada pelos túbulos que caracterizam este tecido.

2.1.4.1.Túbulos Dentinários

Os túbulos dentinários percorrem trajetos sinuosos a partir da superfície pulpar em direção à junção amelodentinária e ao cemento – curvaturas primárias. Na coroa, as convexidades dessas curvaturas primárias são menos acentuadas que as das regiões da raiz e, ainda menores, abaixo das cúspides, onde cursam trajetos mais retilíneos. Curvaturas menores – curvaturas secundárias – com pequenas mudanças de direção ocorrem ao longo dos túbulos. Em algumas regiões, estas pequenas curvaturas podem coincidir em túbulos adjacentes - linhas de contorno de Owen. Estas formações são pouco comuns na maior parte da dentina, com exceção da junção amelodentinária. Poucos túbulos dentinários ultrapassam a junção amelodentinária. Quando isto ocorre, avançam alguns milímetros no interior do esmalte e formam estruturas denominadas de fusos do esmalte (Bhaskar 1989; Berkovitz *et.al.*; 2004).

A distribuição dos túbulos dentinários não é homogênea ao longo da dentina. Encontram-se mais agrupados na região próxima a polpa e distanciados, uns dos outros, na porção mais externa (camada periférica). O diâmetro dos túbulos dentinários também apresenta variações. São maiores junto à polpa (3 a 4µm) e menores na extremidade oposta (1µm) - (Garberoglio & Brännström 1976). Esta diferença inicia-se durante a formação do tecido dentinário, momento em que

os prolongamentos odontolásticos migram para o interior da dentina e ocupam área cada vez menor à medida que caminham em direção à junção amelodentinária. Em corte transversal, os túbulos apresentam áreas com formações mais ou menos arredondadas, dependendo do plano em que o tecido foi seccionado (Bhaskar 1989).

Estimativas sobre o número de túbulos por unidade de área apresentadas na literatura mostram variações em razão da desigualdade das amostras empregadas nos estudos: idade dos dentes, tipo de dente e região avaliada. Considerando todos estes fatores, estima-se em 20.000/mm² o número de túbulos na porção mais externa da dentina, 50.000/mm² na porção interna e 40.000/mm² no centro. Em média, há mais túbulos por unidade de área na dentina coronária em comparação à radicular (Garberoglio *et.al.*; 1976, Fosse *et.al.* 1992, Olsson *et.al.*; 1993).

Ramificações laterais aos túbulos dentinários, denominadas canalículos ou microtúbulos, estão presentes em toda o tecido. Apresentam 1µm ou menos de diâmetro e se encontram em ângulo próximo de 90° com o túbulo principal. Alguns canalículos terminam na dentina intertubular, enquanto outros interligam túbulos adjacentes ou distantes. Estão presentes em maior número na região próxima à junção amelodentinária, tornando-se mais escassos abaixo da dentina periférica, e novamente expressivos na matriz dentinária antes de sua mineralização (pré-dentina) - (Applebaum 1929, Mjor and Nordahl 1996).

2.1.4.2.Dentina peritubular

Na dentina entre os túbulos (**item 2.1.4.3**), recentemente organizada na superfície pulpar, inicia-se a formação dos túbulos dentinários que contêm basicamente colágeno tipo I mineralizado. Com o processo de desenvolvimento do tecido, outro tipo de dentina é depositado na parede dos túbulos, reduzindo o seu

diâmetro. Esta nova dentina que circunda diretamente os túbulos é chamada de dentina peritubular (Marshall *et.al.*; 1997). Sua deposição, frequentemente associada ao envelhecimento fisiológico, conduz à obliteração dos túbulos (Holland 1994), especialmente na dentina radicular (Kerns *et.al.*; 1991). Diferentemente da dentina intertubular, não possui matriz de colágeno e sua porção inorgânica apresenta grau de mineralização 15% superior (Berkovitz *et.al.*; 2004). Pode também ser distinguida da dentina intertubular por meio de raios-X moles (baixa KV) e microscopia eletrônica, que mostram aumento de densidade mineral na dentina peritubular. Ela é quase duas vezes mais espessa na porção externa da dentina (0,75µm), em comparação à região interna próxima à pré-dentina (0,4µm). A dentina peritubular está presente inclusive em dentes não erupcionados (Bhaskar 1989).

Na desmineralização do tecido dentinário (ácido fosfórico 30-40%) a dentina peritubular se perde, uma vez que não possui características estáveis na sua configuração, proporcionadas pelo colágeno. Este processo resulta no aumento do diâmetro dos túbulos dentinários, em relação a suas dimensões iniciais, e os prolongamentos dos odontoblastos parecem circundados por um espaço vazio. Nestas condições, a observação da dentina peritubular em microscopia eletrônica mostra uma matriz orgânica amorfa (Perdigão *et.al.*; 1996, Marshall *et.al.*; 1997). A principal proteína que compõe este material informe apresenta um alto peso molecular e uma formação de aminoácidos diferente da fosfoforina presente na dentina intertubular. Outra desigualdade entre estas duas dentinas é o componente mineral encontrado na dentina peritubular, que é representado principalmente pela apatita carbonada na forma cristalina, diferentemente da dentina intertubular (Weiner *et.al.*; 1999). Uma outra estrutura ainda é descrita na parede interna da dentina peritubular, denominada lâmina limitans. Ela é apresentada em alguns estudos como uma membrana orgânica delgada e rica em glicosaminoglicanas (GAG) – (Thomas 1984, Pagavino *et.al.*; 1991, Goracci *et.al.*; 1999). No entanto, esta hipótese não é unânime entre outros investigadores que acreditam ser este revestimento reduzido ou inexistente nos túbulos,

representando, apenas, a membrana celular dos odontoblastos (LaFleche *et.al.*; 1985, Sigal *et.al.*; 1985).

2.1.4.3.Dentina intertubular

A dentina intertubular é a principal porção mineralizada da dentina e a estrutura que sustenta os túbulos dentinários. À semelhança do osso e do cimento, é um tecido intensamente calcificado. Cerca da metade do seu volume é constituído de matriz orgânica mineralizada, especialmente de fibrilas de colágeno, que juntas formam um emaranhado tridimensional ao redor os túbulos dentinários (Marshall Jr 1993, Berkovitz *et.al.*; 2004). Apesar do alto conteúdo mineral, esta matriz é mantida após a desmineralização (Goracci *et.al.*; 1993, Perdigão *et.al.*; 1996). O colágeno presente nesta estrutura é constituído por fibrilas de 0,2 a 0,5µm de diâmetro, intercalados por estriações transversais em intervalos de 64nm. Sobre estas fibrilas, cristais de apatita com dimensões de 0,1µm são formados e depositados paralelamente aos seus eixos (Bhaskar 1989).

2.1.5.Pré-dentina

A pré-dentina localiza-se junto ao tecido pulpar e, em média, tem espessura de 15µm, variando de acordo com a quantidade de dentina depositada naquele momento, isto é, por exemplo, mais espessa em dentes jovens (Goracci & Mori 1995). Ela representa a matriz dentinária antes da mineralização. À medida que as fibrilas de colágeno são mineralizadas, a pré-dentina passa a ser denominada dentina e o processo se renova com a formação de uma nova camada de pré-dentina (Butler 1992, Linde 1995).

2.1.6. Conteúdo dos túbulos dentinários

Em complemento às informações anteriores com relação aos odontoblastos e seus prolongamentos, é necessário acrescentar outros dados sobre esta célula. Quanto ao corpo celular, estima-se que apresente 7µm de diâmetro e 40µm de comprimento. O seu prolongamento alcança o interior dos túbulos com diâmetro que pode variar de 3 a 4µm, junto à polpa, e diminui para 1µm à medida que se afasta em direção oposta (Bhaskar 1989; Avery 2001). Nenhuma técnica empregada até hoje mostrou uma imagem definitiva da distância precisa percorrida pelos prolongamentos celulares no interior dos túbulos. Imagens obtidas em microscopia eletrônica de transmissão fornecem evidências de prolongamentos celulares a cerca de 200 a 300µm distantes da polpa (Thomas 1979). No entanto, imagens em microscopia eletrônica de varredura mostram estruturas semelhantes aos prolongamentos celulares no limite amelodentinário (Maniatopoulos & Smith 1983). Yamada *et.al.*; (1983), estudando dentes humanos submetidos à criofratura, também chegaram a esta última conclusão. Apesar disso, alguns estudos em microscopia eletrônica de transmissão consideram provável que estas estruturas, descritas como prolongamentos, representem a membrana orgânica que reveste o túbulo - lâmina limitans – e não os prolongamentos (Thomas 1984, Pagavino *et.al.*; 1991, Goraci *et.al.*; 1999). Investigações com metodologias mais específicas usando imunofluorescência revelaram a presença de tubulina, uma proteína intracelular presente nos prolongamentos odontoblásticos, em toda a extensão da dentina (Sigal *et.al.*; 1985) . Apesar da incongruência de resultados constatados entre os diversos estudos, pode-se admitir que em alguns casos os prolongamentos atravessem toda extensão dentinária, como em outras áreas podem ser encurtados, estreitados ou obliterados pela deposição mineral.

A imagem dos prolongamentos vistos em microscopia eletrônica de varredura mostra microtúbulos, algumas vesículas e, ocasionalmente, mitocôndreas. Os microtúbulos, com diâmetro da ordem de 20nm e filamentos de 5 a 7,5nm, aparecem ordenados e distribuídos ao longo de todo prolongamento

(Bhaskar 1989). Na pré-dentina as organelas estão mais presentes e, raramente, são encontradas na dentina mineralizada. Vesículas de diversos tamanhos são vistas principalmente nas proximidades da membrana celular e, em número reduzido, nas partes mais distantes do processo. Além dos prolongamentos odontoblásticos, presentes no interior dos túbulos, é provável que exista um espaço “vazio” pós-odontoblástico causado pela sua retração. Presume-se que este espaço seja preenchido com “fluido dentinário”, cuja composição é desconhecida. Sabe-se que este líquido contém uma concentração relativamente alta de íons potássio e baixa de sódio, diferentemente de outros fluidos extracelulares (Berkovitz *et.al.*; 2004).

Na pré-dentina e na porção mais interna da dentina circumpulpar mineralizada, axônios nervosos são vistos dentro dos túbulos e próximos dos processos odontoblásticos (Gunji 1982, Carda & Peydro 2006). Estas terminações estão mais presentes na dentina coronária abaixo das cúspides e, em menor número, na dentina cervical e radicular. Como nos odontoblastos, a extensão dos prolongamentos nervosos dentro dos túbulos ainda não é totalmente conhecida (Berkovitz *et.al.*; 2004).

2.2. ESTRATÉGIAS DE UNIÃO À DENTINA

Os sistemas adesivos permitiram a formação de uma união estável entre diferentes materiais odontológicos e a dentina (Nakabayashi *et.al.*; 1982). Isto provocou mudanças nos conceitos e técnicas restauradoras. O desenvolvimento de diferentes estratégias para se alcançar esta união trouxe enorme progresso, resultando na melhor qualidade dos procedimentos restauradores. Inicialmente, os sistemas de união eram complexos, com múltiplos passos operatórios (Kanca 1991; Gwinnett & Kanca JA 3rd, 1992).

2.2.1.TÉCNICA DO CONDICIONAMENTO ÁCIDO TOTAL

A união ao esmalte dental, que é um tecido constituído principalmente de material inorgânico (96%) e apenas uma pequena quantidade de substância orgânica e água (4%) (Sharawy & Yaeger, 1989), é entendida como um procedimento bem consolidado e clinicamente estável (Nakabayashi & Pashley, 1998; Kugel & Ferrari 2000). O mesmo não acontece com a dentina, que é um substrato extremamente complexo para a adesão em função de sua composição química e estrutura heterogênea. Conseqüentemente, as estratégias de união aos tecidos dentais vêm sendo desenvolvidas, principalmente, com o desígnio de superar as dificuldades de união a um substrato complexo. Dessa forma, é essencial o estudo da evolução histórica da adesão para que se possa compreender a técnica do condicionamento ácido total dos tecidos e seu mecanismo de ação.

2.2.2. Adesão à dentina – Evolução histórica

Logo após a Segunda Guerra Mundial, o químico suíço Oscar Hagger, trabalhando para a “Amalgamatec Dental Company”, na Inglaterra, desenvolveu um ácido glicerofosfórico dimetacrilato capaz de aderir resina à dentina (Hagger 1951; Hagger 1952). Neste mesmo ano, Kramer e McLean (1952) fizeram uso clínico deste novo produto. Na ocasião, avaliaram a interação desse ácido com a superfície da dentina por meio de cortes histológicos observados em microscopia. Encontraram uma nova estrutura que chamou a atenção dos pesquisadores. A superfície do adesivo, em contato com a dentina condicionada, se mostrava mais intensamente corada pela hematoxilina, em comparação ao controle. Esta

reação incomum de manchamento na dentina poderia indicar uma alteração do tecido, causada pela aplicação do material resinoso.

Na realidade, este modelo, inusitado de adesão ao tecido dentinário, chamou a atenção dos pesquisadores que, a partir deste momento, desenvolveram seus projetos com resultados promissores. O marco inicial deste processo se deu com o estudo de Buonocore (1955), que obteve êxito na adesão ao esmalte condicionado com ácido ortofosfórico. Um ano depois, Buonocore *et.al* (1956) aplicaram o mesmo procedimento à dentina, não alcançando, entretanto, o mesmo sucesso. O tecido dentinário ainda não era bem compreendido como substrato para a adesão, e as resinas disponíveis para uso odontológico, naquela época, não apresentavam características suficientes de molhamento de superfície. Devido ao mau resultado, o condicionamento ácido deixou de ser usado sobre o tecido dentinário. Nesta circunstância, a camada de resíduos criada durante o ato operatório do preparo cavitário – lama dentinária ou camada de esfregaço – não era removida como ocorria na adesão ao esmalte (Retief 1978; Retief *et.al.*, 1986). Sendo assim, os monômeros resinosos eram aplicados sobre a lama dentinária, resultando em baixos valores de resistência de união (aproximadamente 5MPa), determinado pela frágil interação com o substrato, que era apenas de natureza química. Esta fragilidade na adesão foi melhor compreendida com a observação, em microscopia eletrônica de varredura, dos dois lados da amostra onde ocorria falha de união após a realização de ensaio mecânico. Nesta região, constatou-se que a lama dentinária era rompida coesivamente (Tao *et.al.*, 1988). Este achado demonstrou que a lama dentinária tem participação fundamental no mecanismo de união à dentina, devendo ser modificada ou totalmente removida (Watanabe *et.al.*, 1990; Watanabe & Nakabayashi 1993; Toida *et.al.*, 1995).

No processo de formação da lama, os resíduos que compõem esta estrutura sofrem intensa pressão em direção à superfície subjacente da dentina, de maneira a tornar difícil sua remoção, esfregando ou enxaguando este local. No entanto, Pashley *et.al.*; (1988) observaram que a lama dentinária era dissolvida lentamente pelos fluidos bucais e rapidamente em meio ácido. Diante desta constatação, os pesquisadores recomendavam a aplicação de solução ácida

sobre esta barreira para sua remoção. Esta aparente solução trouxe uma nova inquietação por acreditar-se que o tratamento ácido, aplicado diretamente sobre a dentina, seria extremamente danoso à polpa, podendo desencadear reações inflamatórias irreversíveis. Assim, restava como alternativa a este processo, o uso de soluções ácidas menos agressivas ao tecido, mas, ao mesmo tempo, capazes de melhorar a união química à dentina. Diversas substâncias foram submetidas a testes com este propósito. Dentre elas, o desenvolvimento de moléculas monoméricas como os ácidos fosfatados ésteres de metacrilato, que demarcaram o início do desenvolvimento dos sistemas adesivos dentinários. Os primeiros relatos de sucesso, obtidos no condicionamento ácido da dentina como estratégia de união, ocorreram apenas no final da década de 70 e início da década de 80 (Fusayama *et.al.*, 1979; Fusayama 1980). Nestes trabalhos, usou-se o ácido fosfórico no condicionamento, tanto do esmalte quanto da dentina, para remover toda lama dentinária. Este tratamento inovador ficou conhecido como “técnica do condicionamento ácido total”. Mesmo com os resultados auspiciosos obtidos na ocasião, esta técnica levou cerca de 10 anos para que fosse totalmente aceita (Erickson 1989, Van Meerbeek *et.al.*, 1992, 1993a, 1996; Tay *et.al.* 1994a, 1994b, 1996a, 1996b, 1996c).

A aceitação dos conceitos desta técnica foi gradativa e fundamentada na compreensão dos fenômenos envolvidos na adesão. Em seus relatos iniciais, Fusayama e seus colaboradores indicavam a remoção apenas da dentina cariada, até o limite com a dentina sadia. A dentina esclerótica, porção do tecido que vem logo abaixo da dentina desmineralizada pelo processo carioso, é menos permeável que a dentina normal, e deveria ser mantida (Tagami *et.al.*, 1992). Sendo assim, e seguindo essas recomendações, o tratamento ácido para remover a lama dentinária não aumentaria significativamente a permeabilidade da dentina (Pashley *et.al.*, 1991). Na prática, muitos clínicos estendiam os preparos cavitários além do tecido cariado (estrutura menos permeável) atingindo também o tecido hígido (estrutura mais permeável). Este procedimento resultava em uma condição de baixa resistência de união à dentina, isto em função das propriedades dos adesivos utilizados naquela época (Tagami *et.al.*, 1990). Estes monômeros

resinosos não apresentavam características hidrófilas compatíveis com a dentina sadia, determinando uma interação deficiente com o tecido. Este padrão de união permitia a penetração de bactérias, levando à polpa seus produtos secretores. Ficava assim entendido que as irritações pulpares eram causadas pela invasão bacteriana e não pelo efeito dos ácidos sobre a polpa (Kanca 1991; Gwinnett & Kanca JA 3rd 1992; Pashley 1992).

2.2.3.Mecanismo de ação

Nakabayashi N (1982) foi pioneiro ao descrever um sistema de união à dentina empregando a técnica do condicionamento ácido total com resultados satisfatórios. O sistema continha a resina 4-META/metil metacrilato-tri-n-butil borano (MMA-TBB) e o agente condicionador era composto pela união do cloreto férrico a 3% em ácido cítrico a 10%. Esta combinação de ácidos, conhecida como solução 10-3, além de remover totalmente a lama dentinária, desmineralizava a dentina subjacente em aproximadamente 5µm de profundidade. A diferença desta solução com as anteriores, é que as outras apenas tratavam a lama dentinária e não modificavam a dentina subjacente para receber os monômeros resinosos. Este novo procedimento permitiu uma autêntica interação entre os monômeros resinosos e o substrato dentinário, condição já ressaltada por Kramer e McLean (1952). As imagens em microscopia eletrônica de varredura, apresentadas por Nakabayashi *et.al* (1982), mostravam monômeros resinosos no interior da dentina desmineralizada para formar uma nova estrutura ao redor das fibrilas de colágeno, denominada *camada-híbrida*. Esta ordem de construção comporta-se como um envoltório ácido resistente, que sela a dentina, evitando a hipersensibilidade e prevenindo lesões de cárie secundárias (Nakabayashi *et.al.*, 1982, Nakabayashi *et.al.*, 1991).

O mecanismo por meio do qual os monômeros resinosos interagem com o substrato dentinário é decorrente de uma seqüência de fenômenos interdependentes. Este processo inicia-se com o condicionamento ácido da dentina, que promove a remoção da lama dentinária, desmineraliza a dentina peri e inter-tubular, expõe a amplitude dos túbulos dentinários e a malha de fibrilas de colágeno, o que torna o substrato receptivo à infiltração dos monômeros resinosos (Pashley *et.al.*, 1981; Pashley *et.al.*, 1993). Segue-se com a remoção do ácido e seus subprodutos, por meio de abundante lavagem com água. Após este tratamento, os monômeros resinosos aplicados sobre a dentina são prontamente absorvidos por capilaridade para o interior das micro-porosidades reveladas pelo tratamento ácido. Deste modo, os cristais de hidroxiapatita e as fibrilas de colágeno, deixadas à descoberta, são envolvidos pelos monômeros e, mediante um processo de polimerização *in situ*, formam a camada híbrida. As micro-retenções mecânicas conferidas por esta camada representam a principal forma de união dos materiais restauradores resinosos ao substrato dentinário (Nakabayashi *et.al.*, 1982; Nakabayashi *et.al.*, 1991).

Seguindo esta ordem de procedimentos no preparo da dentina, juntamente com a evolução dos agentes adesivos, chegou-se aos atuais sistemas convencionais de união, que empregam a técnica do condicionamento ácido total para a hibridização dos tecidos. Esta técnica pode ser executada em dois ou três passos operacionais. Quando se emprega o sistema convencional de três passos, o condicionamento do substrato é feito pelo ácido fosfórico a 30-40%, seguido pelo *primer* e, por último, o adesivo. O *primer* é composto por concentrações balanceadas de monômeros predominantemente hidrófilos, compatíveis com a umidade dentinária, e um solvente orgânico (água, acetona ou álcool). A função do *primer* é preparar a superfície da dentina de modo a permitir a formação da camada híbrida. Ele reveste as fibrilas de colágeno para posterior infiltração dos monômeros hidrófobos ou preenche os espaços interfibrilares. Outra propriedade essencial do *primer* é promover a recuperação da energia de superfície da dentina, reduzida após o condicionamento ácido. A diminuição da energia é resultado do processo de dissolução mineral e exposição das fibrilas de colágeno

que, como matéria orgânica, apresenta baixa energia de superfície. Esta condição energética dificulta a quebra da tensão superficial do líquido monomérico e a formação de um menor ângulo de contato do adesivo com a superfície dentinária, o que propiciaria um melhor umedecimento deste substrato (Jendresen *et.al.*, 1981). A fase final dos sistemas convencionais de três passos é realizada com a aplicação do adesivo. Este componente é formado predominantemente por monômeros hidrófobos com viscosidade maior que a do *primer*, mas adequada para infiltrar a superfície dentinária preparada. Na sua composição não entram soluções orgânicas nem água. Sua função primordial é realizar a copolimerização entre os monômeros do *primer* e o material restaurador.

A outra versão de sistemas de união convencionais é a forma simplificada em dois passos operacionais, também conhecido como sistema de “frasco único”. O nome está associado ao fato de que tanto os componentes hidrófilos do *primer*, quanto os componentes hidrófobos do adesivo, estão reunidos em um único frasco. Devido à dualidade de ação desse sistema, ele merece algumas considerações para o melhor entendimento do seu mecanismo de ação. Quando aplicado sobre o tecido dentinário, funciona inicialmente como um *primer*, em virtude de sua fluidez. Após a volatilização de seu solvente, adquire maior viscosidade, funcionando como adesivo. Apesar da simplificação operacional, este sistema necessita manter o equilíbrio químico entre os seus agentes hidrófilos e hidrófobos para permitir a adesão, o que torna sua formulação complexa. A despeito da diferença entre os sistemas de união convencionais de dois e três passos, ambos proporcionam adequada união à dentina (Van MeerbeeK *et.al.*, 2003).

Durante o processo de união à dentina, o tempo de condicionamento ácido é fundamental e não deve ultrapassar 15 segundos. O acréscimo deste tempo não produz aumento significativo na profundidade de desmineralização do tecido dentinário, que é capaz de tamponar a solução ácida como mecanismo de defesa, neutralizando-a. No entanto, um período maior de desmineralização causa desnaturação protéica na matriz dentinária, impedindo adequada infiltração dos monômeros resinosos (Tay *et.al.*; 2000). Outro fator de extrema relevância no

procedimento de união à dentina diz respeito à manutenção da umidade deste tecido para a infiltração dos monômeros resinosos. Após a lavagem e remoção do agente condicionador, a dentina desmineralizada não deve ser excessivamente desidratada. Quando isto ocorre, as fibrilas de colágeno sem suporte mineral se colapsam formando pontes de hidrogênio, e os espaços retentivos entre elas são obliterados (Pashley *et.al.*, 1993). Com a falência de função destas fibrilas, a penetração dos monômeros resinosos na matriz desmineralizada fica prejudicada, dificultando a formação da camada híbrida (Nakabayashi & Pashley 1998). Para se evitar esta situação adversa, é preciso que a dentina permaneça úmida. Devido à necessidade da dentina permanecer ligeiramente molhada, este procedimento recebeu a denominação de técnica úmida de hibridização, e está diretamente associado à técnica do condicionamento ácido total.

2.2.4.Sistemas adesivos autocondicionantes

Como pode ser entendido em breve síntese, o sistema de união à dentina, empregando o condicionamento ácido total, só obteve sucesso quando contou em sua formulação um elemento capaz de remover a lama dentinária (condicionador ácido). Ao mesmo tempo, foi preciso buscar uma outra condição essencial à adesão, a umidade da dentina (técnica úmida). No entanto, a determinação do grau de umidade adequado do tecido é um fator subjetivo e difícil de ser alcançado clinicamente. Se por um lado a desidratação excessiva da dentina promove o colapso das fibrilas de colágeno, por outro, o excesso de umidade também interfere desfavoravelmente sobre a infiltração monomérica.

Para contornar estas condições prejudiciais à adesão, Watanabe *et.al.*; (1990) e Watanabe (1992) desenvolveram um sistema de união denominado autocondicionante. Este sistema era aplicado ao tecido dentinária de modo mais simplificado e, diferentemente dos anteriores, a desmineralização e infiltração do

tecido ocorria simultaneamente. Assim, evitar-se-ia o colapso das fibrilas de colágeno expostas após a desmineralização da dentina. Na formulação original, este sistema pioneiro continha uma solução aquosa de Fenil-P a 20% em HEMA a 30% para promover a adesão. Em virtude deste arranjo químico, ficou conhecido como sistema 20P-30H, e possibilitou novas e importantes informações relativas ao mecanismo de adesão à dentina coberta pela lama dentinária (Watanabe 1992; Watanabe *et.al.*, 1994a, Watanabe *et.al.*, 1994b; Toida *et.al.*, 1995, Nakabayashi & Saimi 1996).

A partir do estabelecimento desta técnica, verifica-se um intenso processo evolutivo dos sistemas de união até se alcançar o estágio atual de desenvolvimento. Neste período, foram empregados diversos monômeros ácidos específicos (4-MET, 4-metacrilóxi-etil tri-melítico; 10-MDP, 10- metacrilóxidecil di-hidrogênio fosfato, dentre outros), todos derivados de radicais carboxílicos. Estes monômeros mais ácidos conferem ao sistema maior estabilidade e, como referido anteriormente, são capazes de desmineralizar e infiltrar o substrato do esmalte e dentina concomitantemente. Com estas características e propriedades, eles ainda podem ser classificados, de acordo com o número de passos operatórios para a aplicação, em sistemas autocondicionantes de dois passos ou adesivos de passo único. Com relação ao poder do condicionamento ácido, definido pela incorporação de um ou mais grupamentos carboxílicos ou fosfato ao monômero ácido (Van Meerbeek *et.al.*, 2001), podem ser subdivididos em sistemas autocondicionantes de ação moderada ou de alta agressividade (Pashley & Tay 2001; Tay & Pashley 2001; Van Meerbeek *et.al.*, 2003). É importante lembrar que, embora os sistemas autocondicionantes sejam relativamente novos, o modo como se realiza o autocondicionamento das estruturas dentais é semelhante ao dos cimentos de ionômero de vidro. A desigualdade entre eles está no fato do cimento de ionômero de vidro conter uma molécula de alto peso molecular (policarboxilato), ao passo que os sistemas autocondicionantes possuem monômeros de baixo peso molecular (Van Meerbeek *et.al.*, 2003).

Os componentes destes sistemas são acondicionados em dois frascos e podem ser aplicados em dois passos operatórios ou em passo único. No caso de

dois passos operatórios, o primeiro frasco contém monômeros ácidos ou derivados, monômeros hidrófilos e água (*primer* ácido). O segundo frasco reúne concentrações balanceadas de monômeros hidrófilos e, predominantemente, hidrófobos. O radical fosfato do monômero ácido, presente no *primer*, é responsável pelo condicionamento dos tecidos dentais, enquanto o componente metacrilato da molécula disponibiliza-se para a co-polimerização com o agente de união e a resina restauradora (De Goes 2001). A especificidade deste processo adesivo autocondicionante consiste na desnecessidade de lavar a superfície do substrato após a aplicação do *primer* ácido, dado que os subprodutos da desmineralização são incorporados e polimerizados juntamente com o agente de união (Perdigão *et.al.*, 1997). Alguns exemplos desses sistemas são o Clearfil SE Bond (Kuraray), Clearfil SE Bond Plus (Kuraray), Unifil Bond (GC), AdheSE (Ivoclar/Vivadent), dentre outros. Devido ao pH próximo a 2, são considerados de agressividade moderada (Van MeerbeeK *et.al.*, 2003).

Não satisfeitos com a simplificação operacional proporcionada pelos adesivos autocondicionantes de dois passos, os fabricantes trabalharam para produzir uma versão ainda mais simples de uso. O resultado veio em 1999, com a criação do primeiro adesivo autocondicionante de passo único, denominado comercialmente de Prompt L-Pop (3M/ESPE Dental AG, Seefeld, Germany). Sua aplicação é realizada em um único passo operatório, em que todos os componentes do sistema (ácido, *primer*, e adesivo) são aplicados ao tecido dental. Este produto recebeu a denominação genérica de “todos em um” devido às características de seus componentes, que agem simultaneamente para a hibridização dos tecidos. Em seguida à sua aplicação, uma rápida secagem é realizada para a evaporação do solvente e formação de uma fina camada do adesivo sobre a superfície do substrato, suficiente para promover a união com material restaurador (Frey 2000). Nos últimos anos, novos produtos foram lançados no mercado odontológico com estas propriedades, como os sistemas Adper Prompt L-Pop (3M/ESPE), Clearfil S3 Bond (Kuraray Co), Xeno IV (Dentsply Caulk), Optibond All-in-one Bond (Kerr Corp), entre outros. Estes adesivos são

classificados como sistemas agressivos, devido ao pH igual ou menor a 1 (Van Meerbeek *et.al.*, 2003).

Pelo fato dos sistemas autocondicionantes necessitarem de um menor número de passos operatórios para sua aplicação, ficam menos sujeitos a incorreções técnicas. Outra vantagem, em relação aos sistemas de condicionamento ácido total, é a realização simultânea do condicionamento e infiltração do tecido. Em função desta estratégia de união, o incompleto preenchimento da porção desmineralizada da dentina pelos monômeros resinosos, freqüentemente observado na técnica do condicionamento ácido total, assume um menor valor (De Goes & Montes 2004). Esta faixa do tecido desmineralizado e não preenchido torna-se fragilizada, e constitui-se no local mais susceptível à hidrólise e degradação da interface de união, o que compromete a sua durabilidade (Burrow *et.al.*, 1993; Van Meerbeek *et.al.*, 1999). Todo este conjunto de características vantajosas, proporcionadas pelos sistemas autocondicionantes, é que tornam esta nova técnica de hibridização uma alternativa para adesão ao tecido dentinário.

2.3.SISTEMAS DE UNIÃO CONTENDO PARTÍCULAS INORGÂNICAS .

2.3.1.Descrição história do desenvolvimento

As resinas compostas e os sistemas de união passaram por significativos avanços nas últimas quatro décadas, conferindo a estes produtos qualidades estéticas e funcionais, tanto em restaurações anteriores, quanto posteriores. Estes materiais apresentam unidades monoméricas em suas formulações que, ao se aproximarem durante a reação de presa, realizam ligações químicas entre si. Estas ligações originam moléculas com maior peso molecular, designadas polímeros. Esta reação química em cadeia é conhecida como polimerização por

adição, devido ao fato de não formarem subprodutos. Como resposta a esta interação molecular, tem-se uma redução de volume do produto final, fenômeno conhecido como contração de polimerização. A “diminuição de tamanho” produz tensões que, no caso de restaurações, normalmente concentram-se na interface de união com o substrato a que são unidos (Kemp-Scholte & Davidson 1990). Esta característica inerente aos materiais plásticos é inconveniente, principalmente em relação aos compósitos odontológicos restauradores. Se as tensões geradas durante a sua polimerização excederem a resistência de união entre o sistema adesivo e o tecido dental, haverá a formação de uma fenda na interface, podendo ocorrer infiltração bacteriana, sensibilidade pós-operatória, cárie secundárias e danos à polpa (Brannstrom 1984).

Para atenuar estes efeitos indesejáveis, os esforços dos pesquisadores, durante a década de 80, concentraram-se na elaboração de adesivos capazes de produzir maior resistência de união ao substrato dental (Munksgaard *et.al.*; 1985a, Munksgaard *et.al.*; 1985b). No entanto, estudos concomitantes a este período (Davidson & DeGee 1984, Feilzer *et.al.*; 1987, Kemp-Scholte & Davidson 1990) demonstraram que a qualidade da adaptação marginal dos compósitos não dependia apenas da resistência de união ao substrato dental, mas também poderia sofrer influência de outros fatores, como a configuração geométrica da cavidade ou o fator C (Feilzer *et.al.*; 1987), técnica de preenchimento cavitário (Leibenberg 1996), módulo de elasticidade ou rigidez do compósito restaurador (Kemp-Scholte & Davidson 1990, Van Meerbeek *et.al.*; 1993b, Leibenberg 1996) e sistema de fotoativação (Goracci *et.al.*; 1996, Mehl *et.al.*; 1997).

Fundamentados nos princípios de Feilzer *et al.*; (1987), que qualificaram a configuração geométrica da cavidade, Kemp-Shcolte & Davidson (1990) ampliaram este conceito. Sugeriram a confecção de uma “parede cavitária elástica”, de modo a reduzir os efeitos adversos da contração de polimerização dos compósitos restauradores, que causa “falha” marginal. Ficou estabelecido que se a interface de união apresentasse certo grau de elasticidade, suficiente para compensar a alteração dimensional causada pela redução volumétrica do compósito, as tensões geradas seriam amenizadas e não excederiam a

resistência de união entre o sistema adesivo e o dente, resguardando esta interface. Segundo Kemp-Shcolte & Davidson (1990), a “parede cavitária elástica” cria um gradiente de elasticidade a partir do substrato dental até o compósito restaurador. Esta variação de elasticidade, além de atenuar as tensões geradas durante a contração do compósito restaurador (Kemp-Shcolte & Davidson 1990, Van Meerbeek *et.al.*; 1993b), poderia também auxiliar na absorção das tensões provenientes do carregamento oclusal (Wakefield *et.al.*; 1998). Gerariam ainda, um coeficiente de expansão térmica na interface de união próximo aos coeficientes da dentina e do compósito restaurador que, somado a outras vantagens desta técnica, contribuiria para a manutenção da integridade da união à dentina (Fanning *et.al.*; 1995).

A própria camada-híbrida já apresenta características de elasticidade e funciona como uma estrutura de absorção de tensões. Entretanto, esta flexibilidade é limitada, desempenhando parcialmente a função de minimizar as tensões geradas pela contração de polimerização dos compósitos restauradores (Van Meerbeek *et.al.*; 1993b, Swift *et.al.*; 1996). Em decorrência da melhor compreensão da interface de união, houve um crescente interesse na seleção e correta aplicação de materiais com propriedades direcionadas à formação da “parede cavitária elástica”. O material selecionado para desempenhar tal função deveria ser aplicado sobre a camada-híbrida, atuando como um *liner* ou forrador cavitário.

Segundo este conjunto de princípios, estabeleceu-se, inicialmente, que não deveriam ser utilizados como *liners* ou forradores cavitários materiais que apresentassem alto módulo de elasticidade. Esta propriedade mecânica é definida como quociente entre a tensão aplicada e a deformação elástica resultante, indicando a relativa rigidez do material. Quanto menor a deformação sofrida pelo material, após aplicação de uma determinada tensão, maior é o seu módulo de elasticidade e mais rígida é sua estrutura (Anusavice 1998). De modo geral, materiais com alto módulo de elasticidade podem causar a destruição da interface de união devido à sua alta rigidez, acarretando sensibilidade pós-operatória e baixa qualidade de selamento marginal (Unterbrink & Liebenberg 1999). Um

forrador cavitário deve apresentar como característica fundamental o escoamento plástico após sua presa, proporcionando, assim, condições para suportar e absorver as tensões geradas pela contração de polimerização do compósito restaurador a que será unido. Nesta circunstância, os efeitos da contração de polimerização do compósito restaurador, aplicada diretamente sobre a camada-híbrida, seriam minimizados (Davidson & De Gee 1984, Labella *et.al.*; 1999). Em conformidade com estes conceitos, o material com propriedades mais próximas destas características, e que poderiam funcionar como forradores cavitários, seriam os compósitos de baixa viscosidade.

Esta categoria de compósitos com baixa viscosidade chegou ao mercado odontológico em 1996, sendo desenvolvida com o objetivo principal de proporcionar características especiais de manipulação. Estes materiais foram desenvolvidos a partir dos compósitos híbridos tradicionais, mantendo-se as mesmas dimensões das partículas inorgânicas (tamanho médio entre 0,7 μ m e 1,5 μ m), reduzindo, entretanto, o conteúdo inorgânico em aproximadamente 30% em volume. Esta mudança propiciou maior escoamento ao material, facilitando sua aplicação clínica. Em consequência ao menor volume de partículas inorgânicas nestes compósitos, suas propriedades mecânicas foram reduzidas entre 10 a 40% em relação aos compósitos convencionais (De Goes 2001). Por todo este conjunto de fatores, os compósitos de baixa viscosidade não são indicados para restaurar dentes sujeitos a altos esforços mastigatórios (Bayne *et.al.*; 1998).

Em comparação às resinas convencionais, os compósitos de baixa viscosidade apresentam maior contração de polimerização em função de seu menor conteúdo inorgânico. A maior contração de polimerização poderia potencializar as tensões geradas na interfase de união. No entanto, a menor rigidez dos compósitos de baixa viscosidade favorece a integridade da interface de união, pois permite uma “acomodação” das cadeias poliméricas durante a reação de polimerização. Esta reorganização molecular minimiza as tensões geradas na interfase de união com o substrato, obtendo-se valores equivalentes aos compósitos tradicionais. Este fenômeno químico demonstra que a tensão gerada

pela contração não está relacionada com os valores de variação volumétrica do material, e sim, com o seu módulo de elasticidade (Feilzer *et.al.*; 1990). Isto significa que a tensão gerada na interfase dente-restauração é equivalente a alteração dimensional (contração de polimerização) multiplicada pelo módulo de elasticidade (rigidez), segundo a lei de Hooke. Como o módulo de elasticidade é diretamente proporcional ao conteúdo volumétrico inorgânico, altos valores de tensão podem ser produzidos, mesmo com o emprego de materiais com contração volumétrica relativamente baixa, como os compósitos convencionais (De Goes 2001, Montes *et.al.*; 2001)

O baixo módulo de elasticidade foi a propriedade decisiva pela preferência dos compósitos de baixa viscosidade como forradores cavitários na construção da “parede cavitária elástica”, conforme Kemp-Sholte & Davidson (1990). Quando o compósito restaurador é aplicado e polimerizado sobre uma camada de compósito de baixa viscosidade, ele sofre uma deformação plástica, liberando as tensões geradas pela contração do material restaurador. Dessa forma, age como um “rompe-forças”, evitando, assim, que as tensões produzidas pela contração de polimerização dos compósitos atuem diretamente sobre a camada-híbrida e destruam a união com a estrutura dental (Van Meerbeek *et.al.*; 1993b, Swift *et.al.*; 1996, Prager 1997, Bayne *et.al.*; 1998, Behle 1998, Rada 1998, Labella *et al.*; 1999, Unterbrink & Liebenberg 1999).

No final da década de 90, e seguindo a tendência dos fabricantes em construir materiais com redução do número de passos operatórios, passou-se a almejar um produto que pudesse selar o substrato dental e, ao mesmo tempo, funcionasse como um amortecedor de tensões. Na ocasião, a categoria de material que mais se aproxima deste perfil era a dos sistemas de união. No entanto, nenhum de seus representantes possuíam as mesmas propriedades elásticas dos compósitos de baixa viscosidade. Para se alcançar este propósito, houve a necessidade da incorporação de partículas inorgânicas, constituídas principalmente de sílica ou vidro convencional. Com este novo arranjo, surgiram os sistemas de união com a inclusão de partículas inorgânicas. Alguns exemplos desta categoria de material são o All Bond 2 (Bisco Inc., Schaumburg, IL, USA),

Clearfil Liner Bond 2 (Kuraray Co., Osaka, Japan), Clearfil SE Bond (Kuraray Co., Osaka, Japan) OptiBond (Kerr Corp., Orange, CA, USA) e Amalgambond (Parkell Biomaterials Division, Farmingdale, NY, USA).

A incorporação dessas partículas aumenta a viscosidade do material (Nunes *et.al.*; 2001), o que favorece a formação de uma camada de adesivo mais espessa e com maior grau de elasticidade. Assim, esta camada atuaria também como um “rompe forças”, seguindo os mesmos princípios dos compósitos de baixa viscosidade (Labella *et.al.*; 1999, Unterbrink & Liebenberg 1999). Deve-se considerar ainda, conforme Rueggeberg & Margeson (1990) que, em geral, os 15µm superficiais da camada de adesivo não são polimerizados devido à inibição causada pelo contato com o oxigênio do ar. Camadas mais espessas de adesivo sofrem, proporcionalmente, menos os efeitos inibitórios do oxigênio, resultando em polímeros de melhor qualidade e, conseqüentemente, com maior resistência coesiva para suportar as tensões de contração de polimerização do compósito restaurador. Estes benefícios advindos da incorporação de carga aos sistemas de união os tornaram efetivamente capazes de promover melhor selamento interno e marginal das restaurações (Swift *et.al.*; 1996, da Cunha Mello *et.al.*; 1997, Choi *et.al.*; 2000, Deliperi *et.al.*; 2003), resultando em maiores valores de resistência de união com a dentina (Fortin *et.al.*; 1994, Fanning *et.al.*; 1995, Wakefield *et.al.*; 1998). Além destas vantagens, passaram a exibir radiopacidade, facilitando a interpretação radiográfica (Labella *et.al.*; 1999).

O futuro promissor dos sistemas de união com partículas inorgânicas fez com que se adotasse a mesma estratégia em relação aos sistemas convencionais de frasco único. Nesta categoria de adesivos se encontram os sistemas OptiBond Solo (Kerr Corp., Orange, CA, USA) com 26% de partículas de vidro de bário (0,6µm) e sílica coloidal (0,04 µm), e o One Coat Bond (Coltene/Whaledent, Mahwah, NJ, USA) com 5% de sílica coloidal (Moghadas *et.al.*; 2007), entre outros. Contudo, estudos têm mostrado que as partículas inorgânicas presentes nestes sistemas não se constituem no elemento determinante da melhor resistência de união à dentina (Braga *et.al.*; 2000, Can Say *et.al.*; 2005), condição essencial na avaliação da capacidade do adesivo em suportar a contração de polimerização

dos compósitos (Braga *et.al.*; 2000). Quanto ao desempenho clínico, estes materiais não apresentaram nenhum benefício adicional em um período de 18 meses de avaliação em restaurações classe V (Swift *et.al.*; 2001).

Estes achados podem ser melhor entendidos quando se analisa a composição dos sistemas convencionais de frasco único. Esta categoria de sistemas de união, que representa simplificação técnica operacional, necessita de formulação química complexa para possibilitar a reunião de monômeros hidrófilos e hidrófobos em um único frasco. Dessa forma, características relativas ao equilíbrio químico do adesivo, como o tipo de solvente utilizado (água, álcool ou acetona), ou o grau de umidade do substrato acabam adquirindo maior relevância na determinação da efetividade do material. Deste modo, pode ser explicado porque a presença de partículas inorgânicas na composição dos sistemas adesivos de frasco único assume importância secundária em termos de resistência de união (Braga *et.al.*; 2000)

Importante estudo realizado por Van Meerbeek *et.al.*; (1996) demonstrou que as partículas inorgânicas de tamanho micrométrico, presentes nos sistemas convencionais, não são capazes de penetrar nos espaços interfibrilares da dentina desmineralizada. Estes espaços são extremamente reduzidos, apresentando cerca de 20nm de diâmetro (Watanabe *et.al.*; 1994a, Perdígão *et.al.*; 1996, Van Meerbeek *et.al.*; 1998), o que impede a passagem das micropartículas. Assim, ficavam localizadas na camada do adesivo e na embocadura dos túbulos dentinários (Van Meerbeek *et.al.*; 1996, Tay *et.al.*; 1999). Com isso, a infiltração apenas dos monômeros resinosos para formar a camada-híbrida não restabeleceria a resistência da dentina desorganizada pela ação desmineralizadora do condicionamento ácido (Tay *et.al.*; 1999). Apesar destas características não interferirem no desempenho dos sistemas convencionais de três passos (Fortin *et.al.*; 1994, Fanning *et.al.*; 1995, Swift *et.al.*; 1996, da Cunha Mello *et.al.*; 1997, Wakefield *et.al.*; 1998, Choi *et.al.*; 2000, Deliperi *et.al.*; 2003), a possibilidade de infiltrar partículas inorgânicas na camada-híbrida de sistemas convencionais de frasco único constitui-se em uma alternativa que poderia

proporcionar melhores resultados. Neste caso, o benefício à integridade da união seria proporcionado pelo “reforço” da camada-híbrida.

Para viabilizar esta possibilidade, a primeira condição seria produzir partículas inorgânicas extremamente reduzidas, de tamanho nanométrico, para que pudessem penetrar nos espaços interfibrilares. Neste sentido, as empresas responsáveis pelo desenvolvimento de materiais odontológicos buscaram na nanociência, e mais especificamente na nanotecnologia, o conhecimento para alcançar este objetivo.

2.4.NANOTECNOLOGIA

2.4.1.Introdução

Nanociência, ou mais comumente nanotecnologia, é o campo da engenharia em escala submicrométrica. A manipulação de átomos, moléculas, partículas, etc, em dimensões nanométricas é uma nova ciência e o início de um novo ciclo que aguça a capacidade humana em desvendar o desconhecido. Estes novos conhecimentos despertaram, desde o início, o interesse da comunidade científica, que já previa enorme potencial de aplicação desta ciência nos mais variados setores industriais. Atualmente, são produzidos embalagens de plástico biodegradável que podem virar adubo, tecidos que absorvem suor e eliminam bactérias, revestimento de vitrocerâmica que imita pedras naturais, lentes anti-reflexo, nanopartículas poliméricas para ministrar fármacos, dispositivos nanoestruturados no combate ao câncer, defensivos agrícolas biologicamente corretos, que são absorvidos pelo solo em curto período de tempo, etc (Giulio 2007). A esta lista pode ser acrescentado materiais de uso odontológico.

2.4.2.Noções gerais

O entendimento das propriedades de materiais produzidos em escala nanométrica – nanoescala, que podem apresentar novos comportamentos e/ou propriedades diferentes daquelas presentes em materiais com escala macroscópica, tem revolucionado a ciência e a tecnologia. O conhecimento e o entendimento da nanotecnologia está compreendido entre 0,1 e 100nm ou, exemplificando, desde dimensões atômicas até aproximadamente o comprimento de onda da luz visível. Nesta faixa dimensional, a ciência moderna pode determinar as propriedades da matéria exercendo controle sobre ela. O grande desafio presente é produzir conhecimentos que auxiliem a compreensão, criação e especialmente a manipulação de nanoestruturas. Para este desenvolvimento é preciso aprender uma nova percepção científica, que requer o encaminhamento do raciocínio a estruturas extremamente reduzidas. Neste campo de dimensões nanométricas, as forças magnéticas e gravitacionais, essenciais em outras ciências, agem de forma quase imperceptível. No estágio de conhecimento atual, apenas dispositivos e estruturas simples podem ser criadas de maneira controlada e reprodutiva (Duran *et.al.*; 2006).

Outra particularidade da nanotecnologia é o seu caráter interdisciplinar, uma vez que envolve os mais diversos tipos de materiais (polímeros, cerâmicas, semicondutores, compósitos e biomateriais). Todos eles podendo ser nanoestruturados de modo a fornecerem unidades estruturais fundamentais ou blocos de construção - *building blocks* - como os nanotubos, nanofibras, nanopartículas e clusters, que, por sua vez, são formados por átomos e moléculas. O domínio deste processo representa o objetivo principal da nanotecnologia, que vai desde a elaboração de blocos organizados e seus subseqüentes arranjos, até formar materiais e/ou dispositivos nanoestruturados (Saravana & Vijayalakshmi 2006).

2.4.3.Fatores relevantes na história da nanotecnologia

A corrida em direção ao conhecimento das partículas elementares, que constituem a matéria, teve início na Grécia antiga com os filósofos Aristóteles, Leucipo e seu discípulo Demócrito, por volta de 440 a.C. (Souza 2000, CMDMC-LIEC/UNESP-UFSCAR, 2006). Com o passar dos séculos, e à medida que novos métodos e equipamentos de investigação científica foram sendo aperfeiçoados e incorporados à ciência, a concepção da matéria foi modificando (Chandy *et.al.*; 1997, Hawking 1988).

Não obstante ao empenho dos cientistas em pesquisar os elementos que compõe a matéria e, assim, melhor compreendê-la e controlá-la em escala macroscópica, a possibilidade de manipular os átomos e moléculas em escala nanométrica tem um passado recente. Esta idéia ganhou maior consistência a partir da palestra proferida na American Physical Society, em 29 de dezembro de 1959, por Richard Feynman, ganhador de dois prêmios Nobel (Eric Drexler 1990, Eric Drexler *et.al.*; 1991). Richard ministrou a palestra *There's plenty of room at the bottom*, que pode ser traduzida como “Há bastante espaço vazio lá embaixo”, para a American Chemical Society no Instituto de Tecnologia da Califórnia (EUA). A conferência tratou da existência de um universo extremamente reduzido e propôs a manipulação de átomo por átomo (Feynman 1959). Na oportunidade, o cientista já vislumbrava a utilidade da manipulação de átomos na fabricação de dispositivos úteis para diversos campos do conhecimento (Eric Drexler 1990, Fishbine 2002).

O conceito de Feynman, no entanto, não pôde ser levado adiante devido aos conhecimentos científicos da época sobre o assunto e a tecnologia não exeqüível para sua realização. Na realidade, o homem já vinha empregando esta técnica desde os séculos IV e V a.C., porém, de modo empírico. Os cientistas desta época, conhecidos como alquimistas, trabalhavam com partículas extremamente reduzidas (ouro coloidal – partículas de 1 a 10nm) na confecção de vasos de Licurgo em diversas cores: roxo, vermelho, azul, etc (Fishbine 2002, Wilson *et.al.*; 2002, CMDMC-LIEC/UNESP-UFSCAR, 2006).

Até esse momento, não tinha sido dado um nome a esta ciência. A primeira vez que se utilizou o termo nanotecnologia foi em 1974 por Norio Taniguchi, da

Universidade de Tóquio. Nessa ocasião, Taniguchi distinguiu a engenharia em escala micrométrica de um novo campo da engenharia, agora em escala submicrométrica (Taniguchi 1983, Taniguchi 1996).

Nenhum fato expressivo verificou-se até o início da década de 1980. Com o invento dos microscópios de varredura por sonda (SPM), de varredura por tunelamento (STM), de campo próximo (NFM) e de força atômica (AFM), a nanotecnologia teve um avanço extraordinário (Fishbine 2002, Reed 2000). O primeiro importante impulso após a descoberta desses novos instrumentos ocorreu em 1986, no momento em que Richard Smalley descobriu os *buckminster* fulerenos ou *buckyballs*, uma nova forma de blocos de construção (unidades estruturais fundamentais), constituídos por bolas formadas por átomos de carbono, por exemplo C_{60} . Estes novos elementos guiaram a descoberta dos nanotubos de carbono, em 1991, por Sumio Iijima. O nanotubo de carbono é uma forma de bloco de construção caracterizada basicamente por uma folha de carbono enrolada de modo a formar um tubo (Strickland & Bonsor 2007). Devido a sua alta resistência mecânica e propriedades singulares, os nanotubos de carbono vêm revolucionando a nanotecnologia, fundamentalmente ao serem utilizados, dentre outras aplicações, como nanopinças no posicionamento de átomos e moléculas – nanomanipulação (Toma & Araki 2005).

Os avanços nesta área vêm acontecendo de forma intensa. Mais recentemente, a nanotecnologia ofereceu um novo modelo para a manipulação em escala submicrométrica. O objetivo a ser alcançado foi a criação de dispositivos a partir de unidades estruturais fundamentais, para construção de baixo para cima (*bottom-up technology*) ou de cima para baixo (*top-down technology*), até chegar a nanodispositivos (Eigler 1999, Roco *et.al.*; 1999). A *top-down technology* caracteriza-se por uma tecnologia, que usa métodos de erosão ou desgaste, para produzir blocos de construção a partir de uma peça maior. Já a *bottom-up technology* utiliza o processo inverso, ou seja, os blocos fundamentais ou *building blocks* são utilizados para construir estruturas maiores. Simultaneamente aos avanços de experimentos laboratoriais, a simulação do comportamento dos materiais em nanoescala, por meio da microeletrônica e

modernos softwares, vêm contribuindo fortemente para o desenvolvimento da nanotecnologia. Este procedimento de avaliação evita gastos, muitas vezes desnecessários e dispendiosos (Cruchon-Dupeyrat *et.al.*; 2001).

2.4.4. Significado de nanotecnologia

A expressão nanotecnologia é constituída pela junção do prefixo nano com a palavra tecnologia. O prefixo nano é derivado da palavra grega – *nános* – que significa “anão”. O sentido atual deste termo é empregado como prefixo em qualquer unidade de medida, significando um bilionésimo desta unidade. Por exemplo, quando a unidade for o metro, o nanometro equivale a um bilionésimo de um metro ($1\text{nm} = 1/1000.000.000\text{m}$), que representa a distância ocupada por cerca de 5 a 10 átomos (Fishbine 2002, Wilson *et.al.*; 2002). O termo tecnologia, também originado do grego (*téchnē* + *lógos* = arte, ofício, prática + conhecimento, estudo, ciência) significa o emprego de método científico com finalidades práticas e/ou comerciais. A nanotecnologia permite manipular átomos, de dimensões que abrangem de 0,1 e 100nm, para formar estruturas maiores com nova organização e disposição, geralmente, para fins comerciais (Aviram & Ratner 1998, Fishbine 2002, Duran *et.al.*; 2006).

Os novos materiais e sistemas produzidos com esta tecnologia mostram particularidades físicas, químicas e/ou biológicas diferentes das originais (macroescala), em razão de seus componentes estarem reduzidos à nanoescala. O passo seguinte à criação de nanoestruturas é a manutenção da estabilidade das interfaces e a integração destas estruturas. Assim, completaria o ciclo para o surgimento de materiais estáveis com propriedades únicas, como a dos nanotubos de carbono, estruturas que lembram a do DNA, emissores de laser, entre outros, que são precursores de uma fase revolucionária para a ciência e tecnologia

(Rocco 1995, Aviram & Ratner 1998, Reynolds 2002, Fishbine 2002, Galembeck 2003, Seeman 2003).

2.4.5. Características dos materiais nanoestruturados

A enorme magnitude da redução de tamanho das estruturas nanométricas, e o surgimento de novos fenômenos intrínsecos, são os principais responsáveis pelas alterações comportamentais que predominam nos materiais em nanoescala. Esta característica não é previsível a partir da observação do comportamento em macroescala. A diferença de desempenho entre a macroescala e a nanoescala ocorre porque às forças naturais (atrito, gravidade, etc), que norteiam as macroestruturas, mudam de importância quando a escala é reduzida (Nicolau *et.al.*; 2000, Fishbine 2002, Galembeck 2003).

Duas são as forças naturais que predominam no mundo do homem: força gravitacional e a força de atrito. Além delas, existem as “dominadas” pelo homem, resultantes de motores de combustão interna, e as eletromotoras, que impulsionam as máquinas elétricas. Neste campo, as forças são dominantes, desde a escala macroscópica até dimensões de cerca de 1mm (Rocco 1995, Rocco *et.al.*; 1999, Rocco & Bainbridge 2001, Fishbine 2002, Seeman 2003). Quando se passa para escalas menores, como a das nanopartículas, as forças de atrito, gravitacional e de combustão adquirem importância mínima. No universo das dimensões nanométricas, outras forças predominam, como, por exemplo, a força eletrostática. Em escala subatômica, a força de atração eletrostática entre dois prótons é cerca de 10^{36} vezes mais intensa que a força gravitacional (Rocco 1995, Rocco *et.al.*; 1999, Rocco & Bainbridge 2001, Fishbine 2002, Seeman 2003).

As forças eletrostáticas predominantes em nanotecnologia são as de van der Waals e o movimento browniano. As forças de van der Waals são resultantes

de dipolos flutuantes observados em moléculas simétricas, como às presentes em gases inertes. Entretanto, a maioria das moléculas é assimétrica, com distribuição de cargas não uniforme, o que resulta em campos elétricos diferentes, provocando atração ou repulsão de outras moléculas. Deste modo, a força eletromagnética predominante é o movimento browniano, que ocorre em pequenas moléculas ou partículas onde a gravidade é desprezível. A força exercida por este movimento faz com que as moléculas se desloquem, não conservando as posições que são postas. Se de um lado o movimento das moléculas dificulta a nanomanipulação, de outro, é um dos recursos utilizados para movimentar nanodispositivos (Rocco; 1995, Aviram & Ratner 1998, Eigler 1999, Rocco *et.al.*; 1999, Rocco & Bainbridge 2001, Fishbine 2002, Reynolds 2002, Galembeck 2003, Seeman 2003).

Ainda no campo de materiais em escala nanométrica, outros efeitos devem ser considerados. Os principais deles são os decorrentes do tamanho e os induzidos pelo aumento da área superficial. Os efeitos de tamanho se manifestam quando, por exemplo, a estrutura atômica normal de partículas magnéticas, contendo os subníveis eletrônicos de acordo com o princípio da exclusão de Pauli, é substituída por uma série de níveis eletrônicos discretos, depois de reduzidas à dimensões muito pequenas. Esta reorganização dá origem a novos fenômenos como o superparamagnetismo, mudanças nas propriedades físicas, etc. Quanto aos efeitos induzidos pelo aumento da área superficial de matérias nanoestruturadas, a principal relação está na ampliação significativa da sua reatividade. A maior reatividade proporciona, dentre outras vantagens, uma redução, por exemplo, em até algumas dezenas de graus Celsius, da temperatura de processamento de certos materiais. Isso significa diminuição de gastos com energia e é o fundamento da moldagem a frio de muitos materiais (Rocco 1995, Aviram & Ratner 1998, Eigler.1999, Rocco *et.al.*; 1999, Rocco & Bainbridge 2001, Fishbine 2002, Reynolds 2002, Galembeck 2003, Seeman 2003).

Não obstante a todos estes conhecimentos, adquiridos ao longo de anos de pesquisa, a nanotecnologia ainda encontra-se em uma fase denominada de pré-competitiva no campo comercial. Uma enorme quantidade de estudos vêm sendo

realizados de modo a viabilizar novas idéias na esperança de ampliar as aplicações desta ciência.

2.5.APLICAÇÃO DA NANOTECNOLOGIA EM MATERIAIS ODONTOLÓGICOS AVANÇADOS

O desenvolvimento alcançado pela nanotecnologia provocou uma revolução neste segmento da ciência, tornando-se extremamente ativo, especialmente nas duas últimas décadas (Schulz 2000). A manipulação em escala nanométrica tem atingido as mais diversas áreas do conhecimento (Whitesides & Christopher Love 2001), inclusive a odontológica, como são os casos de compósitos restauradores e sistemas de união modernos.

2.5.1. Compósitos odontológicos com partículas nanométricas

Apesar dos compósitos nanoestruturados não estarem incluídos neste estudo, breve histórico sobre esta nova categoria de material será descrito, servindo de suporte ao capítulo.

A filosofia operatória minimamente invasiva dos tecidos dentais, resultante do desenvolvimento de compósitos odontológicos, constitui-se em uma das contribuições mais significativas para a odontologia. A possibilidade de união efetiva entre o compósito restaurador e os tecidos dentais, por meio de sistemas adesivos, deixou de priorizar preparos cavitários retentivos e geometricamente definidos, o que trouxe o enorme benefício na preservação do tecido dental. Além disso, a similaridade entre as propriedades mecânicas dos compósitos e do tecido dentinário, devolve ao dente restaurado comportamento biomecânico semelhante

ao do dente íntegro na absorção dos esforços mastigatórios. Outra propriedade relevante deste material restaurador é a capacidade de reproduzir o policromatismo dental, conferindo características estéticas às restaurações (Fortin & Vargas 2000).

Durante muitos anos, os compósitos odontológicos apresentavam, quase que exclusivamente, função estética. Até o final da década de 90, nenhum destes materiais foi capaz de reunir características funcionais, fundamentais para restaurações de dentes posteriores, com propriedades estéticas, adequadas para restauração de dentes anteriores (Denehy 2000). Isso só se tornou possível a partir dos avanços na manipulação em escala nanométrica da fase inorgânica dos compósitos odontológicos. Esta inovação tecnológica resultou na obtenção de nanopartículas e, como consequência, a alteração, de forma controlada, de suas propriedades. Nesse estágio evolutivo, foi possível desenvolver um compósito restaurador universal, ou seja, capaz de apresentar alto polimento - típico de compósitos microparticulados indicados para dentes anteriores - com propriedades mecânicas satisfatórias, aplicados em áreas submetidas a altas tensões - típico de compósitos híbridos empregados em dentes posteriores (Craig & Ward; 1997, Mitra *et.al.*; 2003). O compósito restaurador pioneiro a agregar estas características, introduzido no mercado odontológico em 2002, recebeu o nome comercial de FilteK Supreme Universal Restorative (3M ESPE Dental Products, St. Paul, Minn.), em que a composição básica da matriz orgânica é semelhante a dos seus antecessores (Mitra *et.al.*; 2003). Na América Latina, o produto foi denominado FilteK Z350 (3M ESPE Dental Products, St. Paul, Minn.)

Os compósitos odontológicos tradicionais contêm partículas inorgânicas com características diferentes das partículas nanométricas. Neste caso, a tecnologia de produção industrial requer a síntese de partículas a partir de blocos fundamentais ou *building blocks* (*Bottom-up technology*), ao invés do processo convencional, que utiliza métodos de erosão ou desgaste de estruturas naturais maiores, como o quartzo minado, vidro fundido e alguns tipos de cerâmica (*Top-down technology*). O processo convencional não consegue produzir partículas inorgânicas com dimensões inferiores a 100nm (Mitra *et.al.*; 2003), o que limita a

manipulação das propriedades dos compósitos. Com a nanomanipulação, foi possível desenvolver dois tipos de partículas inorgânicas de tamanho reduzido utilizando a *Bottom-up technology*: partículas nanométricas e nanoclusters.

As partículas nanométricas são constituídas de sílica na forma monodispersa, não agregada/aglomerada. Elas são obtidas a partir de uma solução aquosa de sílica coloidal que, por meio de um processo químico denominado sol-gel, dá origem a um pó composto por partículas de sílica com dimensões que variam entre 20 a 75nm de diâmetro. Em seguida, a superfície das partículas é tratada com 3-methacryloxypropyltrimethoxysilane (MPTS). O MPTS, conhecido como agente de união *silano*, caracteriza-se como uma molécula bifuncional que apresenta afinidade pela sílica em uma das extremidades, enquanto a outra, contém grupamentos metacrilato compatíveis com os monômeros resinosos presentes na fase orgânica do compósito. O tratamento de superfície tem a função de impedir a agregação das partículas antes da polimerização do compósito, anulando as forças eletrostáticas entre as nanopartículas. O silano, ainda, é responsável pela união química entre as nanopartículas de sílica e a matriz resinosa durante a polimerização do compósito (Mitra *et.al.*; 2003).

Os nanoclusters são constituídos pelo agrupamento de partículas nanométricas, e apresentam aspecto morfológico semelhante a cachos de uva. As nanopartículas primárias, que compõem os nanoclusters, variam entre 2 a 20nm de diâmetro. São constituídas de zircônio/sílica e obtidas a partir de uma solução aquosa de sílica coloidal e sal de zircônia (sol-gel). Por meio da *Bottom-up technology* são agrupadas em nanoclusters, que apresentam, em média, 0,6µm de diâmetro. Estas estruturas também recebem tratamento superficial com o MPTS para promover compatibilidade e união química com a matriz orgânica (Mitra *et.al.*; 2003).

Com o domínio dessa tecnologia, que permitiu a síntese e estabilização de nanopartículas e nanoclusters, conseguiu-se incorporar aproximadamente 59% de carga, em volume, aos compósitos nanoparticulados, a semelhança dos compósitos híbridos e microhíbridos. Não seria possível incorporar tal volume de

partículas inorgânicas (de tamanho reduzido) às formulações dos compósitos sem o domínio da nanotecnologia. Nos compósitos microparticulados, por exemplo, a redução nas dimensões das partículas, situadas entre 0,01 a 0,1 μ m (*Top-down technology*), aumenta muito a área de superfície, necessitando de maior quantidade de matriz orgânica para revesti-la. Como resultado, os compósitos microparticulados, apesar de alcançarem polimento e brilho superiores aos compósitos híbridos e microhíbridos, apresentam propriedades mecânicas inferiores em função do menor volume inorgânico, em média 45% (Craig & Ward 1997, Mitra *et.al.*; 2003).

A utilização combinada de nanopartículas e nanoclusters não causa aumento da área superficial inorgânica, como ocorre nos compósitos microparticulados. Dessa forma, foi possível incorporar aos compósitos nanoestruturados quantidade de carga similar a dos compósitos híbridos e microhíbridos e, assim, alcançar propriedades mecânicas análogas ou superiores a eles. Devido ao tamanho nanométrico de suas partículas, agregam características de alto polimento e brilho, como a dos compósitos microparticulados. Isto ocorre porque o deslocamento destas estruturas, observado com o desgaste natural do compósito, produz mínimas irregularidades superficiais, que ainda são capazes de refletir a luz com o mesmo efeito observado anteriormente, conservando o seu brilho e polimento (Mitra *et.al.*; 2003).

Outra particularidade destes compósitos é a possibilidade de manipular as características de translucidez e opacidade, variando-se a relação de partículas nanométricas e nanoclusters. A maior quantidade de nanoclusters, com nanopartículas presentes apenas nos espaços intersticiais, causa maior empacotamento das partículas, o que dificulta a passagem da luz e confere características de maior opacidade. Na relação inversa, presença de maior quantidade de nanopartículas e redução dos nanoclusters, ocorre a formulação de compósitos com maior translucidez, sem prejuízos significativos às propriedades mecânicas do material. Estes recursos permitem a reconstituição dental de forma mais estética, a partir da estratificação do compósito. Nesta técnica, são aplicadas

camadas correspondentes ao corpo da restauração, à dentina, ao esmalte e sua área incisal, semelhantemente à construção de peças protéticas em cerâmica. Anteriormente ao desenvolvimento das nanopartículas, a opacidade e a translucidez eram controladas, principalmente, alterando-se a quantidade de opacificadores, o que resultava em maior dificuldade para se alcançar o mimetismo das estruturas naturais do dente (Mittra *et.al.*; 2003).

Da mesma forma, observa-se com outros materiais usados na área odontológica que, uma vez nanoestruturados, passam a apresentar novos comportamentos e/ou propriedades.

2.5.2.Sistemas de união contendo nanopartículas inorgânicas

Paralelamente ao desenvolvimento dos compósitos odontológicos, os sistemas adesivos convencionais de frasco único também experimentaram avanços tecnológicos importantes com a incorporação de nanopartículas em alguns de seus representantes. As estruturas nanométricas, compostas por sílica sintética, são obtidas pelo método químico/industrial de hidrólise por aquecimento ou pelo processo químico sol-gel, idêntico ao utilizado na produção dos compósitos odontológicos nanoparticulados (Michael & Fench 1993).

O primeiro representante desta categoria de material foi o adesivo Prime & Bond NT (Dentsply, De Trey, Konstanz, Germany), introduzido no mercado odontológico no final da década de 90. Este material contém partículas inorgânicas primárias com 7nm de diâmetro. Para que permanecessem uniformemente dispersas nos componentes monoméricos fluídos do adesivo, e assim, não se agregassem, as partículas receberam tratamento superficial com o *silano* (MPTS), como descrito nos compósitos nanoparticulados. Teoricamente, estas partículas inorgânicas com dimensões reduzidas seriam capazes de penetrar nos espaços interfibrilares da dentina desmineralizada, que apresentam aproximadamente 20nm de diâmetro (Watanabe *et.al.*; 1994a, Perdigão *et.al.*;

1996, Van Meerbeek *et.al.*; 1998). Assim, funcionariam como elemento de reforço da camada-híbrida, de forma semelhante aos cristais de hidroxiapatita presentes na camada-híbrida formada pelos sistemas adesivos autocondicionantes (Tay *et.al.*; 1999). A incorporação dessas partículas não resulta em aumento de espessura na camada de adesivo e nem na formação da “parede cavitária elástica”. Os resultados positivos decorreriam da penetração uniforme das nanopartículas nos espaços interfibrilares, com a formação de uma camada-híbrida mais resistente às forças de contração de polimerização do compósito restaurador e, conseqüentemente, apresentariam melhor desempenho clínico.

Apesar dessas previsões otimistas, Nunes *et.al* (2001) encontraram valores de resistência de união à microtração, com o Prime & Bond NT (Dentsply, De Trey, Konstanz, Germany), estatisticamente iguais ou inferiores aos outros adesivos de frasco único. Este estudo também comparou os valores de resistência de união produzidos pelo adesivo Prime & Bond NT e uma versão experimental deste material, com a mesma composição monomérica, mas sem carga. Surpreendentemente, não houve diferença estatística entre os valores médios de resistência de união entre eles. Com base nestes resultados, ficou demonstrado que a simples adição de partículas inorgânicas nanométricas à composição do sistema de união Prime & Bond NT (Dentsply, De Trey, Konstanz, Germany), não proporcionou aumento na resistência de união à dentina.

Esses resultados podem ser entendidos com base em importante estudo morfológico realizado por Tay *et.al.*; (1999). Utilizando microscopia eletrônica de transmissão, esses autores demonstraram a interação micromorfológica entre o adesivo Prime & Bond NT (Dentsply, De Trey, Konstanz, Germany) e a dentina. As imagens microscópicas mostraram que os espaços interfibrilares não foram infiltrados pelas nanopartículas, mas apenas pelos monômeros resinosos. Atribuíram este achado a uma instabilidade química das nanopartículas, que se aglomeram formando partículas maiores, os clusters. Assim constituídas, ficam acumuladas na embocadura dos túbulos dentinários ou na camada do adesivo acima da dentina, não havendo, portanto, reforço da camada-híbrida. Trata-se de

um processo semelhante ao *Bottom-up technology*, porém, de modo incontrolado e indesejável.

Diferentemente dos compósitos odontológicos, a adição de partículas nanométricas à composição dos sistemas de união, ainda não foi dominada. A estabilização de nanopartículas em sistemas adesivos é extremamente difícil de ser alcançada. É o caso do adesivo Prime & Bond NT (Dentsply, De Trey, Konstanz, Germany), que apresenta um equilíbrio químico crítico, com alteração das características de fluidez e pH em função da rápida volatilização do seu solvente a base de acetona. A instabilidade química é, provavelmente, responsável pela agregação das nanopartículas, cujo tratamento superficial recebido não consegue bloquear a atração eletrostática entre elas (Tay *et.al.*; 1999).

Recentemente, foi introduzido no mercado odontológico um sistema adesivo convencional de frasco único que contem nanopartículas de sílica coloidal com dimensões de aproximadamente 5nm de diâmetro. Este material, de nome comercial Adper Single Bond 2 (3M Dental Products Division St. Paul, MN,USA), apresenta composição monomérica e solvente (etanol e água) idênticos ao seu antecessor, o Adper Single Bond (3M Dental Products Division St. Paul, MN,USA). Provavelmente, a presença do solvente menos volátil (etanol) ou, talvez, modificações tecnológicas no tratamento superficial das partículas nanométricas, em comparação ao sistema de união Prime & Bond NT (Dentsply, De Trey, Konstanz, Germany), podem contribuir para maior estabilidade química entre os seus componentes. Devido a estas variações, a possibilidade das nanopartículas do Adper Single Bond 2 (3M Dental Products Division St. Paul, MN,USA) infiltrarem os espaços interfibrilares da dentina desmineralizada deve ser investigada.

2.6.DURABILIDADE DA UNIÃO

Os progressos obtidos em termos de resistência mecânica da interface de união, formada entre os sistemas adesivos contemporâneos e os tecidos dentais, são inegáveis. Os resultados promissores encorajaram os profissionais a utilizarem esta técnica em grande número de procedimentos clínicos em que, até então, eram aplicados métodos mais agressivos à estrutura dental.

Os valores de resistência de união alcançados pelos materiais restauradores são fundamentais para garantir a retenção da restauração ao dente. Esta força, que se opõe ao deslocamento, permite que a interface de união suporte não somente as tensões geradas pela contração de polimerização dos compósitos restauradores, mas também o vigor da mastigação e as flutuações térmicas presentes na cavidade bucal. No entanto, existe um consenso a este respeito ao avaliar suas limitações de uso e desempenho. O sucesso clínico não depende apenas do bom resultado alcançado logo após a aplicação do material restaurador, mas à manutenção de suas características ao longo do tempo (Van Meerbeek *et.al.*; 2003).

2.6.1.Mecanismos de degradação da interface de união com a dentina

A descrição da formação da camada-híbrida em dentina foi minuciosamente detalhada em importante estudo realizado por Van Meerbeek *et.al.* (1992). A partir da melhor compreensão da estrutura morfológica da camada-híbrida, surgiram os primeiros questionamentos sobre esta formação. Observou-se, por exemplo, que a zona de dentina desmineralizada não era completamente infiltrada pelo adesivo (Van Meerbeek *et.al.*; 1993a). Dessa forma, as fibrilas de colágeno expostas pela desmineralização ficavam sujeitas a ação dos fluidos tissulares. A evidência

científica de que a área de dentina desmineralizada, e não infiltrada pelos monômeros resinosos, era porosa e permeável aos fluidos externos (Li *et.al.*; 2003) foi denominada *nano-infiltração* (Sano *et.al.*; 1995). A revelação destas evidências contribuiu fortemente para relacionar a perda da resistência de união à dentina como resultado da degradação das fibrilas de colágeno expostas e desprotegidas, que estão localizadas, predominantemente, na base da camada-híbrida (Burrow *et al.*; 1993).

Anteriormente às evidências de nanoinfiltração, considerava-se a resina estável frente aos fluidos bucais, não sendo aventada à hipótese de sua degradação. Este conceito foi fundamentado em estudos clínicos que demonstravam apenas a estabilidade da união ao esmalte, mas não tinham em conta as conseqüências decorrentes da exposição das fibrilas de colágeno, presentes na união à dentina. Também, desconsiderava-se que a adesão ao esmalte se dá em campo seco, com monômeros hidrófobos, enquanto a adesão à dentina em campo úmido, e com adesivos predominantemente hidrófilos. Todos esses fatores, extremamente relevantes à adesão, estabeleceram a função da água que, apesar de desempenhar papel fundamental na adesão à dentina, pode também criar condições que determinam a degradação da interface de união.

Frente a estas possibilidades de comportamento na adesão à dentina, pesquisadores têm procurado interpretar os mecanismos de degradação da interface de união formulando novas hipóteses. Sano *et.al.*; (1999) descreveram perda gradativa da qualidade de união, *in vivo*, ao longo do tempo em sistemas adesivos autocondicionantes, onde acreditava-se não haver discrepância entre área desmineralizada e infiltrada de dentina. Apesar do estudo de Carvalho *et.al.*; em 2004(a), ter demonstrado a presença de zonas demineralizadas e não infiltradas pelos monômeros resinosos, inclusive em adesivos autocondicionantes, Sano H *et.al.*, em 1999, haviam verificado aumento significativo de porosidade na interface de união, representando perda parcial da porção resinosa da camada-híbrida. Frente as fortes evidências científicas presentes em estudos semelhantes a estes, os pesquisadores concentraram-se na investigação dos fenômenos de degradação hidrolítica associada aos sistemas adesivos.

2.6.2. Polímeros susceptíveis a degradação

Os materiais constituídos por polímeros têm sua produção industrial sob condições ideais de desidratação, pressão, tempo, temperatura, etc. Nestas condições, é possível fabricar polímeros com alta qualidade, que resistam às intempéries do meio em que serão inseridos e, conseqüentemente, apresentem maior durabilidade. Na prática odontológica, no entanto, os polímeros restauradores são produzidos nas condições adversas do meio bucal, tais como presença de oxigênio, pressão atmosférica, grande quantidade de umidade do substrato e ativados por energia luminosa, durante 20 segundos a 37°C. Além dessas limitantes, os polímeros odontológicos são produzidos a partir de formulações complexas de monômeros ambifílicos, diluentes e solventes, o que resulta na dificuldade em se alcançar excelência em termos de qualidade polimérica.

A previsão da durabilidade de um polímero, como qualquer outro produto, é de extrema relevância, independente do segmento em que será empregado. Na esfera odontológica, esta antevisão pode ser analisada, grosso modo, pela taxa de conversão de monômeros em polímeros e pela característica hidrófila do material, ou seja, maior ou menor afinidade pela água após sua polimerização. É importante considerar que nenhuma resina odontológica apresenta 100% de conversão de seus monômeros em polímeros, mesmo se produzidos em condições ideais. É improvável que todos os radicais dos monômeros se aproximem e reajam convertendo-se em polímeros, devido a restrições espaciais que impedem tal flexibilidade. Soma-se a isso, o fato da conversão de monômeros em polímeros ficar prejudicada na presença de água (Jacobsen & Soderholm 1995, Paul *et.al.*;1999), levando a sub-polimerização da resina. Esta condição favorece o aumento da absorção de água pelo material, afetando diretamente suas propriedades mecânicas e durabilidade (Paul *et.al.*; 1999, Tanaka *et.al.*; 1999). Juntando-se a água residual a outros fatores negativos, como por exemplo,

característica hidrófila da resina, o polímero resultante apresentará, ao longo do tempo, perda gradativa de qualidade.

Por outro lado, sabe-se que a evaporação completa da água residual não é compatível com a técnica úmida de hibridização. Além disso, adesivos hidrófobos não são mais utilizados rotineiramente nos procedimentos restauradores, mesmo quando se trabalha exclusivamente em esmalte. A tendência de simplificação dos sistemas adesivos tem resultado em materiais cada vez mais hidrófilos e recomendados para todas as situações clínicas. Diante do exposto, até mesmo a adesão ao esmalte, entendida como um procedimento bem consolidado e clinicamente estável (Nakabayashi & Pashley 1998; Kugel & Ferrari 2000) e, especialmente, a adesão à dentina, estariam sujeitas a degradação pela deterioração do próprio adesivo. Seguindo este raciocínio e corroborando com estes dados, estudos recentes com adesivos auto-condicionantes demonstram reduções significativas na resistência de união ao esmalte (Endo *et.al.*; 2002, Yamamoto *et.al.*; 2002, Marquesini *et.al.*; 2003), evidenciando a limitação desses sistemas, que apresentam degradação de seus polímeros ao longo do tempo.

A ação da água no processo de degradação dos sistemas de união é considerável. A maneira como sucede esta deterioração foi demonstrada no estudo de Carrilho *et.al.*; (2004) em restaurações com adesivos a base de acetona (One Step, Bisco), água e etanol (Adper Single Bond, 3M/ESPE) e um sistema autocondicionante (Clearfil Liner Bond 2V, Kuraray). Os dentes restaurados foram armazenados em água ou óleo mineral, por períodos de até 1 ano. Quando armazenados em água, os espécimes apresentaram perdas significativas na resistência de união, já nos primeiros seis meses. Diferentemente dos anteriores, as amostras guardadas em óleo mineral, não apresentaram perda na resistência de união, mesmo após 1 ano. Em sequência a este experimento, Carrilho *et.al.*; (2005) avaliaram as propriedades mecânicas (resistência à tração e módulo de elasticidade) de espécimes compostos por sistema adesivos com formato semelhante a uma ampolheta, e igualmente armazenados em água e óleo mineral por seis meses. Novamente, os resultados evidenciaram a rápida deterioração estrutural dos polímeros imersos em água.

O efeito hidrolítico da água sobre a trama polimérica é deflagrado imediatamente após a imersão do espécime no meio aquoso. A água exerce efeito plastificador sobre as cadeias poliméricas e determina alterações imediatas em algumas propriedades mecânicas (Carrilho *et.al.*; 2004). Com relação à resistência de união, os efeitos causados pela imersão em meio aquoso são evidentes já nas primeiras 24 horas. A perda de qualidade do adesivo foi descrita em estudo realizado por Carvalho *et.al.*; (2004b). Espécimes foram preparados com a aplicação de um adesivo autocondicionante em dentina hidratada (controle) e em dentina desidratada (imersão em concentrações ascendentes de etanol). Após o armazenamento a seco ou em água por 24 horas, foi realizado o teste de resistência de união. Os resultados mostraram significativa redução na resistência de união para os espécimes armazenados em água, independentemente da condição inicial da dentina (hidratada ou desidratada).

A característica hidrófila do adesivo está diretamente relacionada com a capacidade da água em permear as cadeias polimerizadas. A reunião de fatores como presença de monômeros hidrófilos, solvente e umidade do substrato, facilita a absorção de água do meio externo, que migra para as áreas de porosidade interna e alguns sítios do polímero, onde se concentram moléculas hidrófilas. O fenômeno de permeação dos sistemas de união pode ser observado com técnicas específicas de microscopia eletrônica de transmissão, que empregam a solução de nitrato de prata amoniacal como agente traçador (Tay *et.al.*; 2002). O nitrato de prata se acumula, preferencialmente, nos espaços interfibrilares que não foram integralmente preenchidos pelos monômeros resinosos durante a formação da camada-híbrida. A presença desta solução na estrutura da camada do adesivo foi, inicialmente, interpretada de maneira equivocada como um artefato de técnica, produzido durante o processamento das amostras (Sano *et.al.*; 1995, Agee *et.al.*; 2003). Assim, o nitrato de prata servia apenas para apontar a presença de porosidades na camada-híbrida formada por adesivos convencionais, que exibem discrepância entre a extensão da desmineralização e o alcance da infiltração do adesivo, caracterizando o fenômeno conhecido como “nano-infiltração” (Sano *et.al.*; 1995).

Somente com a modificação da técnica de preparo dos espécimes e uso de microscopia eletrônica de transmissão, foi possível entender que a presença de nitrato de prata na camada do adesivo representava defeitos na sua estrutura (Tay *et.al.*; 2002, Tay & Pashley 2003). O caminho traçado pela permeação da água na camada de adesivo segue um padrão semelhante à ramificação de galhos de árvores, determinando um segundo tipo de nano-infiltração denominado “*water treeing*”. Embora esta descrição em odontologia tenha sido recente (Tay & Pashley 2003), o fenômeno é bastante conhecido na Engenharia Elétrica e Tecnologia de Pinturas (Funke 1984, Nguyen *et.al.*; 1995, Nguyen *et.al.*; 1996), e descrito como o primeiro sinal da degradação por hidrólise de polímeros.

Especialmente em adesivos contendo partículas inorgânicas na composição, o “*water treeing*” pode apresentar mudanças de padrão. O estudo de Tay *et.al.*; (2004) mostrou características morfológicas dos padrões de nano-infiltração observados no adesivo a base de acetona One-Step (Bisco), e em duas versões experimentais deste mesmo adesivo contendo, agora, partículas inorgânicas. Uma das versões apresentava 6%, em peso, de partículas silanizadas de sílica e a outra variante 15%, em peso, de partículas silanizadas de vidro fluoraluminiosilicato. Após a realização dos procedimentos de união, secções com 1mm de espessura foram imersas em solução de 50%, em peso, de nitrato de prata amoniacal (pH 9,5), por 24 horas, e processadas para análise em microscopia eletrônica de transmissão. Comparativamente à versão original do adesivo One-Step (Bisco), a presença de partículas silanizadas de sílica reduziu substancialmente o marcação pelo nitrato de prata na camada do adesivo, especialmente nas áreas com aglomeração de partículas. Com relação à presença de partículas silanizadas de vidro fluoraluminiosilicato, uma leve marcação foi observada apenas na camada do adesivo adjacente à camada-híbrida. Apesar de não haver diferenças significativas no padrão de nano-infiltração na camada-híbrida, a presença de partículas de vidro ou, possivelmente, o caráter hidrófobo do silano, podem neutralizar a característica hidrófila dos monômeros resinosos do adesivo. Se esta hipótese estiver correta, adesivos contendo partículas inorgânicas na composição podem apresentar menor permeabilidade e,

consequentemente, maior longevidade clínica. Esta teoria, no entanto, requer confirmação em futuros estudos laboratoriais e avaliações clínicas.

2.7. ENSAIOS MECÂNICOS PARA TESTES DE RESISTÊNCIA DE UNIÃO

No início das avaliações, a resistência de união de sistemas adesivos às estruturas dentais era aferida por meio de testes convencionais de tração e cisalhamento. Apesar de amplamente empregados, estes métodos convencionais freqüentemente resultavam em falhas coesivas no substrato dental ou no material restaurador. O defeito era provocado pela falta de uniformidade na distribuição das tensões, geradas na região de interface de união durante o ensaio mecânico (Van Noort 1991; Sano 1994; Pashey 1995; Versluis 1997; Phrukkanom *et.al.*, 1998a,b; Schreiner 1998). Diante da imprecisão dos resultados, produzidos por processos inadequados, não se obtinham autênticas mensurações da resistência de união.

Apesar destas duas modalidades de ensaio mecânico apresentarem deficiências, o teste de tração era o mais empregado. Sem uma metodologia conveniente que possibilitasse padronização universal do teste, devido ao grande número de variáveis, comparações entre estudos ficavam prejudicadas. Investigações relacionadas às características físicas deste ensaio revelaram que a geometria estrutural dos sistemas, bem como as condições em que as mensurações eram obtidas, podem influenciar expressivamente os valores encontrados (Van Noort *et.al.*; 1989; Van Noort *et.al.*; 1991). Igualmente a estes fatores, os resultados ainda ficam sujeitos a outros elementos relacionados às características dos espécimes, como o formato e a área da secção transversal (Van Noort *et.al.*; 1994).

Todas estas inconsistências, presentes nos ensaios convencionais de tração, estimularam Sano *et.al.*; (1994) a desenvolverem um ensaio mecânico

voltado à minimizar variáveis indesejáveis. A solução encontrada foi o preparo de espécimes com tamanhos reduzidos, razão pela qual denominaram o teste de "micro-tração". Nesta versão, os espécimes são obtidos por meio de finas secções em série do substrato, com área de secção transversal reduzida. A diminuição assegura maior homogeneidade das estruturas avaliadas, permitindo melhor distribuição de forças durante o ensaio mecânico. Na amostra assim configurada, a incidência de fratura coesiva no substrato é atenuada, o que possibilita uma mensuração mais precisa da resistência de união (Sano 1994; Shono 1997; Phrukkanom 1998a, 1998b; Shono 1999).

Uma particularidade importante dos ensaios de micro-tração é o fato dos resultados apresentarem relação inversa à área de superfície unida. Quanto menor a área de secção transversal, maiores são os valores de resistência de união (Sano *et al.*, 1994; Shono *et al.*, 1997; Phrukkanon *et al.*, 1998a, 1998b; Pashley *et al.*, 1999). Outra característica desta técnica é a predominância das fraturas ocorrerem na região de interface entre o adesivo e o substrato, independentemente do valor de resistência de união, o que representa autêntica mensuração da adesão. Além disso, é possível avaliar a resistência de união em diversas regiões do mesmo substrato (inclusive superfícies irregulares) (Pashley *et al.*; 1999) e, ainda, verificar a efetividade da união a estruturas clinicamente relevantes, como o tecido cariado (Nakajima *et al.*, 1995) e dentina esclerótica (Tay *et al.*; 2000; Kwong *et al.*; 2002).

Mesmo representando uma evolução do ensaio convencional de tração, o teste de micro-tração também apresenta algumas dificuldades práticas na sua realização, especialmente relacionadas à sensibilidade técnica do operador na obtenção dos espécimes. O treinamento técnico é fundamental para se confeccionar amostras "perfeitas" ou com reduzidas formações de micro-fraturas na interface de união (Ferrari *et al.*; 2002). Em função disso, foram introduzidas inúmeras variações técnicas daquela originalmente descrita por Sano *et al.*; (1994), buscando diminuir a influência da variável humana. Isto pode ser verificado em diferentes experimentos com espécimes em formato de palito, ampolheta ou cilindro e áreas de secção transversal variando entre 0,5 a 1,5mm. O formato e a

área de secção transversal influenciam os valores de resistência de união e, semelhantemente aos testes convencionais, depreciam comparações de resultados entre diferentes estudos (Van Meerbeek *et.al.*, 2003, Goracci *et.al.*; 2004).

Ainda na busca por avaliações mais apropriadas, outros ensaios mecânicos foram desenvolvidos utilizando também área de secção transversal reduzida, como nos casos dos testes de *micro-cisalhamento* e *push out*. No micro-cisalhamento, um tubo cilíndrico (*Tygon*), com aproximadamente 0,8mm de diâmetro interno e 0,5mm de altura, funciona como matriz para confecção de um cilindro de resina composta, construído perpendicularmente ao substrato (Shimada *et.al.*; 2002, Shimada *et.al.*; 2003). Apesar dos resultados deste exame não diferirem substancialmente dos obtidos na micro-tração, a padronização do local de atuação das forças é dificultada de forma análoga ao teste convencional de cisalhamento (Phrukkanon *et.al.*; 1998a, 1998b). O teste *push-out* é constituído por um pequeno cilindro de resina composta posicionado no centro de um disco de dentina que, ao ser tracionado, gera uma força de cisalhamento na interface de união (Frankenberger *et.al.*; 1999, Frankenberger *et.al.*; 2000a,b). Nesta técnica, o local da fratura é “direcionado” a ocorrer ao longo da interface de união (Drummond *et.al.*; 1996), o que o torna interessante. Entretanto, apresenta limitações como, por exemplo, a impossibilidade de ser aplicado ao esmalte na avaliação da resistência de união a este tecido. Além do mais, os seus resultados são comparáveis aos testes tradicionais de cisalhamento (Drummond *et.al.*; 1996). Por tudo isso, a micro-tração ainda se constitui na metodologia mais empregada para a avaliação da resistência de união dos materiais às estruturas dentais.

De modo complementar aos valores de resistência de união, estudos mais recentes têm demonstrado a importância da análise das superfícies fraturadas dos espécimes. Diferentemente dos testes convencionais, ensaios que utilizam área de secção transversal reduzida possibilitam a análise completa das superfícies fraturadas no experimento (Pashley *et.al.*; 1995; Hashimoto *et.al.*; 2001). Esta análise produz importantes informações em relação à integridade das estruturas envolvidas na interface de união, bem como o mecanismo pelo qual a falha é

originada e propagada (Hashimoto *et.al.*; 2001). Em vista disso, a combinação do teste de micro-tração e a análise das fraturas é extremamente valiosa para caracterizar a união aos substratos dentários, de modo a auxiliar o desenvolvimento de novos materiais e técnicas restauradoras (Lin *et.al.*; 1994).

Apesar de estudos clínicos serem conclusivos na apreciação da eficácia dos materiais restauradores, quando ocorre falha, o exame visual é de poucos recursos para precisar o real motivo que levou ao insucesso. Isso se deve à presença de inúmeras variáveis na cavidade bucal (Van MeerbeeK *et.al.*; 2003). É preciso estudá-las separadamente, o que é impraticável nesta condição. Para tanto, esforços foram direcionados no desenvolvimento de novos ensaios mecânicos laboratoriais, de modo a permitir a avaliação de uma variável isoladamente, mantendo as demais condições constantes. Assim, é possível o estudo das propriedades dos materiais de maneira independente, facilitando o seu entendimento (Van MeerbeeK *et.al.*; 2003).

3-PROPOSIÇÃO

O propósito deste estudo foi avaliar o efeito de partículas inorgânicas, nas escalas micrométrica e nanométrica, incorporadas em adesivos convencionais de frasco único, sobre a morfologia e a resistência da união resina/dentina, por meio da:

- 1) Investigação morfológica da distribuição das partículas inorgânicas na região da união;
- 2) Avaliação da resistência da união por tração e classificação dos padrões de fratura.

4.MATERIAIS E MÉTODOS

4.1.COLETA, ARMAZENAMENTO E PREPARO DOS DENTES

Trinta e três terceiros molares humanos hígidos recém-extraídos, por razões ortodônticas, foram obtidos em consultórios odontológicos privados e doados de acordo com a Resolução 196/96, do Conselho Nacional de Saúde/MS, com projeto aprovado pelo Comitê de Ética em pesquisa da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – Unicamp (protocolo nº 073/2007 - ANEXO 1). Os dentes selecionados foram armazenados em soro fisiológico sob temperatura de 4°C, por um período não superior a 1 mês. Em seguida, passaram por cuidadosa raspagem com o auxílio de curetas Duflex (SS White, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) para a eliminação dos remanescentes do tecido periodontal. O término da limpeza foi realizado com taças de borracha (KG Sorensen, Barueri, SP, Brasil) e pedra pomes (SS White, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) em baixa rotação (Dabi–Atlante, Ribeirão Preto, SP, Brasil), seguida de abundante lavagem com água destilada.

Servindo-se de um disco dupla face de diamante (KG Sorensen, Barueri, SP, Brasil) em baixa rotação, os dentes foram seccionados, aproximadamente 1mm em posição inferior à junção amelo-dentinária (JAD), no sentido transversal, perpendicularmente ao longo eixo de cada um dos elementos (FIG.1). Em seguida, promove-se o corte da porção coronária dos dentes no seu terço médio, de forma similar e com orientação paralela à secção anterior, removendo o esmalte oclusal e expondo uma superfície de dentina média (FIG.2). Neste plano de dentina exposta executou-se desgaste com lixa de SiC granulação 600 (Carborundum Abrasivos, Recife, PE, Brasil), em politriz sob refrigeração com água (APL-4 Arotec, Cotia, SP, Brasil), para a regularização do tecido e padronização da lama dentinária.

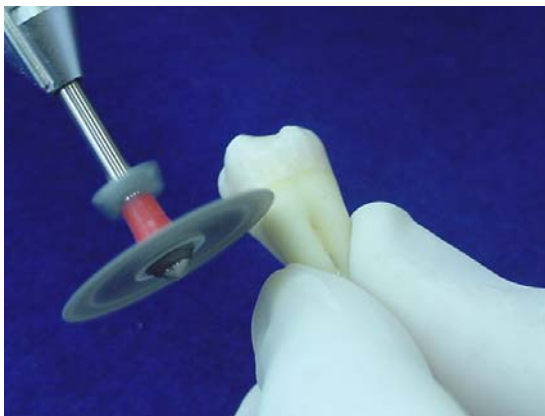


FIGURA 1 - Corte transversal da coroa dental com o auxílio de um disco dupla face de diamante.

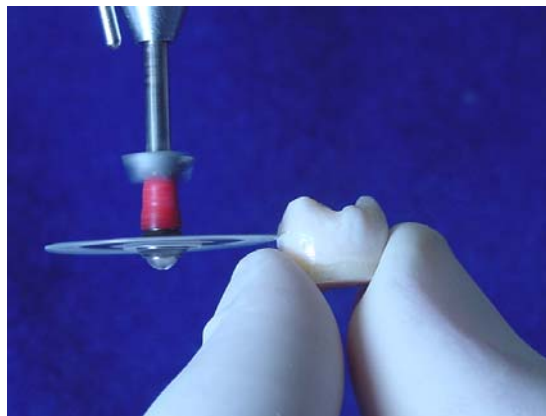


FIGURA 2 – Remoção do esmalte oclusal por meio de secção no terço médio da coroa dental.

4.2.MATERIAIS UTILIZADOS

Neste estudo foram utilizados quatro sistemas de união convencionais de frasco único, sendo que três deles contêm partículas inorgânicas na composição (FIG.3), uma resina composta indicada para confecção de restaurações diretas em dentes anteriores e posteriores, além de duas resinas compostas de baixa viscosidade (FIG.4). As marcas comerciais, composições, lotes e fabricantes estão descritas nos QUADRO 1 e TABELA 1.

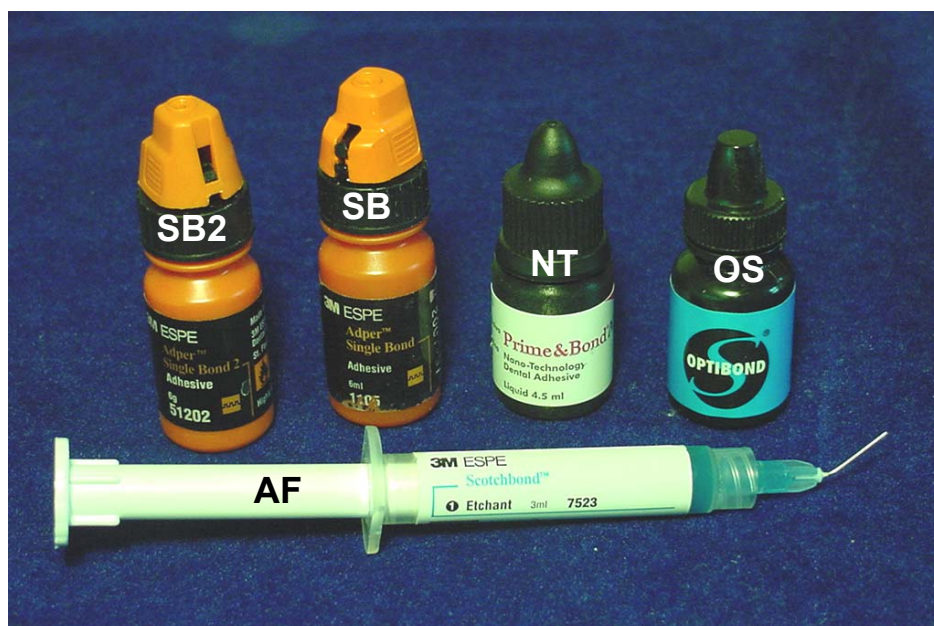


FIGURA 3 – Sistemas de união utilizados no estudo. **SB2** – Single Bond 2; **SB** – Single Bond; **NT** – Prime & Bond NT; **OS** – OptiBond Solo; **AF** – Ácido Fosfórico 35%.



FIGURA 4 – Compósitos utilizados no estudo. **Z250** – Compósito restaurador Filtek Z250. Compósitos de baixa viscosidade: **FF** – Filtek Flow e **PLF** – Protect Liner F.

QUADRO 1 – Marcas comerciais, composições, lotes e fabricantes dos sistemas de união usados no estudo.

Sistema de união	Agente condicionador	Primer + Agente de união*	Nº do lote	Fabricante
Single Bond	Ácido fosfórico a 35%	HEMA ¹ ; Bis-GMA ² ; dimetacrilatos; copolímeros do ác. poli-alcenóico, iniciador, água e etanol.	20000630	3M/ESPE Dental Products Division St. Paul, MN,USA
OptiBond Solo	Ácido fosfórico a 35%	HEMA ¹ , BisGMA ² , GPDM ³ , , hexafluorosilicato de sódio, etanol, água, partículas de Boro-silicato de Ba-Al, sílica pirolítica, hexafluor-silicato di-sódio (0,4µm).	014088	Kerr Corp. Orange, CA, USA
Prime & Bond NT	Ácido fosfórico a 35%	PENTA ⁴ , dimetacrilatos, trimetacrilatos, iniciadores, estabilizadores, hidrofluoreto de cetilamina, acetona e nanopartículas de sílica coloidal (7nmØ).	0306000197	Dentsply Caulk, Milford, DE.
Single Bond 2	Ácido fosfórico a 35%	HEMA ¹ , BisGMA ² , dimetacrilatos, copolímeros do ác. poli-alcenóico, iniciador, água, etanol e nanopartículas de sílica coloidal (5nmØ).	100076	3M/ESPE Dental Products Division St. Paul, MN,USA

* Informações obtidas dos fabricantes

¹ 2-hidroxi-etil-metacrilato

² Bisfenol-Glicidil-dimetacrilato

³ Glicerol-dimetacrilato dihidrogênio Fosfato

⁴ Monofosfato de Dipentaeritritol Pentacrilato

TABELA 1 – Marca comercial, composição, lote e fabricante dos compósitos utilizados neste estudo.

Compósito	Composição *	Nº do lote	Fabricante
Filtek Z250 (A3)	Bis-GMA ¹ ; Bis-EMA ² ; UDMA ³ ; Carga inorgânica – Zircônia/Sílica (60% em volume).	2XX	3M Dental Products, St. Paul, MN – USA.
Filtek Flow (A2)	Bis-GMA ¹ , TEGDMA ⁴ , Carga inorgânica, Zircônia/Sílica (47% em volume).	1BH	3M Dental Products, St. Paul, MN – USA.
Protect Liner F	Bis-GMA ¹ , TEG-DMA ⁴ , Copolímero do metacrilato, Metil-fluoreto metacrilato. Sílica coloidal.	0061BA	Kuraray Co, Osaka, Japan.

* Informação obtida do fabricante

¹ Bisfenol-Glicidil-dimetacrilato

² Bisfenol-polietileno-diéter-dimetacrilato

³ Uretano dimetacrilato

⁴ Trietilenoglicol dimetacrilato

4.3.PREPARO DOS ESPÉCIMES PARA A ANÁLISE DA INTERFACE DE UNIÃO EM MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

Para a caracterização morfológica da interface de união dos sistemas adesivos com a dentina, foram utilizados 16 dentes dispostos em quatro grupos. Os dentes foram fixados individualmente com cera pegajosa (Pason – Indústria e Comércio de Materiais Odontológicos LTDA – Indústria Brasileira) em uma placa de acrílico (Plexiglass). Cada conjunto, assim organizado, foi levado a um cortador de precisão (Isomet 1000 – Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, USA) onde se executaram duas secções transversais e paralelas entre si em cada dente, auxiliadas por um disco dupla-face de diamante (Extec, Enfield, CT, USA). Estes cortes produziram um par de segmentos, em forma de disco, com aproximadamente 1mm de espessura (FIG.5). As superfícies adjacentes dos discos, em dentina média, foram desgastadas com lixa de SiC de granulação 600 (Carborundum Abrasivos, Recife, PE, Brasil) em politriz sob refrigeração com água (APL-4 Arotec, Cotia, SP, Brasil), para padronização da camada de esfregaço. Após o desgaste, estas superfícies foram submetidas ao condicionamento com ácido fosfórico a 35% por 15 segundos, lavadas com água destilada em pisseta durante 30 segundos. O excesso de umidade da dentina foi removido por capilaridade utilizando filtro de papel com função absorvente (Melitta, Celupa Industrial Celulose e Papel Ltda Guaíba/RS), posicionado nas margens das superfícies condicionadas. Os discos, assim preparados, receberam um dos seguintes tratamentos: **Grupo 1** - aplicação de duas camadas consecutivas do adesivo Adper Single Bond, leve jato de ar para volatilização do solvente e fotoativação com o aparelho XL 3000 (3M ESPE), por 10 segundos; **Grupo 2** - aplicação de uma camada do adesivo OptiBond Solo, pincelando-o levemente sobre a superfície por 15 segundos, leve jato de ar para volatilização do solvente e fotoativação com aparelho XL 3000 (3M ESPE), por 20 segundos; **Grupo 3** – aplicação de uma camada do adesivo Prime & Bond NT, a superfície mantida em repouso por pelo menos 20 segundos, leve jato de ar para volatilização do solvente e fotoativação com aparelho XL 3000 (3M ESPE), por 10

segundos, e **Grupo 4** – aplicação de duas camadas consecutivas do adesivo Adper Single Bond 2, aplicando-o sobre a superfície por 15 segundos, leve jato de ar para volatilização do solvente e fotoativação com aparelho XL 3000 (3M ESPE) por 10 segundos. Sobre a superfície tratada de cada disco, foi aplicada uma camada do compósito de baixa viscosidade FilteK Flow (3M Dental Products, St. Paul, MN). Na fase seguinte, cada disco de dentina foi sobreposto ao seu correspondente, constituindo um “sanduíche de resina”. Os discos, assim posicionados, foram levemente comprimidos, com pressão digital, e a camada de compósito restaurador, localizada entre eles, fotoativada lateralmente (Curing Ligth XI 3000 – 3M/ESPE) por 180 segundos em 6 diferentes posições, constituindo um bloco de dentina/compósito/dentina (FIG.6). Finalizada a polimerização, procedeu-se o armazenamento das amostras em água destilada a 37°C (Estufa de Cultura – Fanem Ltda – Modelo 002 CB – SP – Brasil), por 24 horas.



FIGURA 5 – Discos com aproximadamente 1mm de espessura obtidos por meio de secções realizadas na porção média da coroa dental.

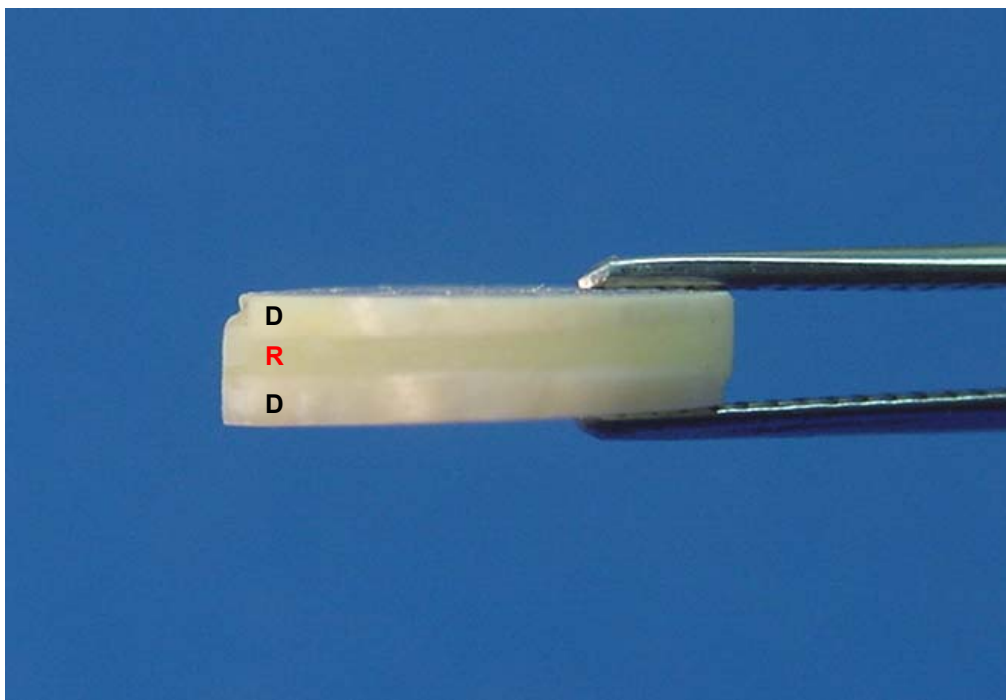


FIGURA 6 – Conjunto composto por dentina/resina/dentina, formando um “sanduíche de resina”. (D) – Disco contendo dentina da porção média da coroa; (R) – Compósito de baixa viscosidade.

Após armazenagem, estas porções foram novamente fixadas com cera pegajosa (Pason – Indústria e Comércio de Materiais Odontológicos Ltda – Indústria Brasileira) em placas de acrílico (Plexiglass). Em seguida, seccionadas na região central, no sentido mesio-distal do dente, perpendicularmente à região da interface de união resina-dentina, por meio de disco dupla-face de diamante (Extec, Enfield, CT, USA) em cortador de precisão (ISOMET 1000 - Buehler UK LTD, Lake Bluff, USA). Desta forma, de cada par de discos obteve-se 4 regiões de interface de união (duas em cada hemi-disco) para análise em microscopia eletrônica de varredura (FIG.7). Estas interfaces foram incluídas, aos pares, em resina epóxica (Epóxi Resin - Buehler UK LTD, Lake Bluff, USA), delimitadas por um anel de plástico (tubo de PVC - 1cm de altura e 2cm de diâmetro) unido à uma

placa de vidro por meio de uma fita adesiva dupla face - Silver Tape - (FIG.8) e armazenadas a 37°C (Estufa de Cultura – Fanem Ltda – Modelo 002 CB – SP – Brasil), por 24 horas.

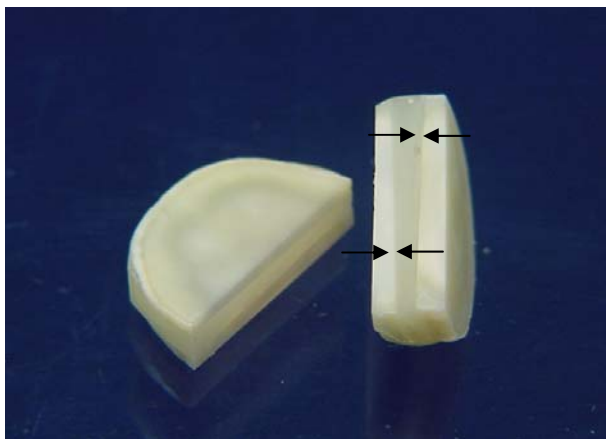


FIGURA 7 – Par de hemi-discos apresentando 4 regiões de interface de união, sendo 2 em cada hemi-disco (**entre setas**).

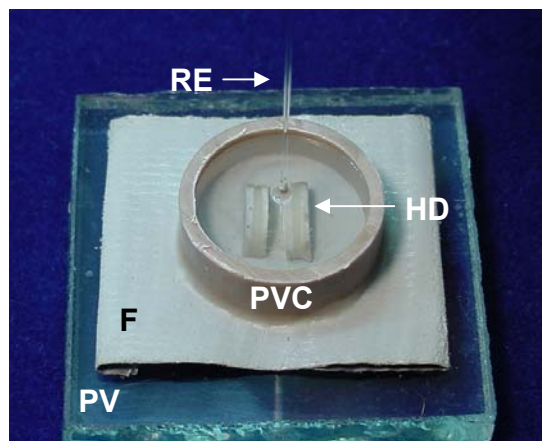


FIGURA 8 – Inclusão do par de hemi-discos (**HD**) em resina epóxica (**RE**), com o auxílio de um tubo de PVC (**PVC**) unido a uma placa de vidro (**PV**) por meio de uma fita adesiva dupla face (**F**).

Após este período, cada bloco de resina epóxica contendo as interfaces foi dividido em dois semi-blocos (FIG.9) e as interfaces polidas com lixas de granulação 1000 e 1200 (Carborundum Abrasivos, Recife, PE, Brasil) sob irrigação com água destilada. Para completar o polimento, utilizou-se feltros (Microcloth Polishing Cloth, Buehler UK LTD, Lake Bluff, USA) e pastas de diamante para polimento, aplicadas em ordem decrescente de granulação: 6, 3, 1, e 1/4µm (Buehler UK LTD, Lake Bluff, IL 60044, USA). As secções foram polidas por 15 minutos em cada pasta de diamante e, nos intervalos entre elas, colocadas em ultra-som com água destilada (Unique Ind. e Co. de Produtos Eletrônicos Ltda,

São Paulo – SP– Brasil) por 10 minutos e por mais 30 minutos ao final do polimento. Posteriormente, as superfícies das secções passaram por condicionamento com ácido fosfórico a 50% durante 5 segundos (Proderma farmácia de manipulação Ltda, Piracicaba - São Paulo – Brasil), lavadas abundantemente em água destilada com pisseta, imersas em solução de NaOCl a 10% por 10 minutos (Proderma farmácia de manipulação Ltda, Piracicaba - São Paulo – Brasil) e novamente limpas por ultra-som em água destilada durante, 30 minutos.

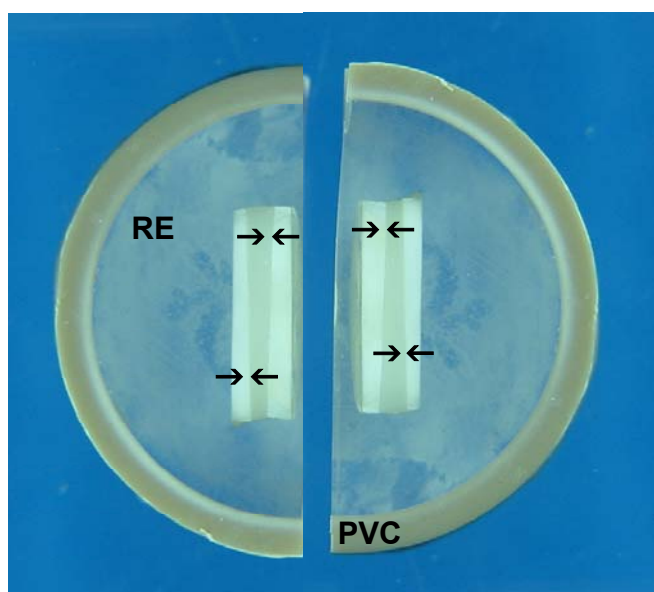


FIGURA 9 – Bloco de resina epóxica (**RE**) seccionado em dois semi-blocos. (**PVC**) – Tubo de PVC. Interfaces de união resina/dentina (**entre setas**)

Após a limpeza, as amostras foram desidratadas por imersão em etanol (F. Maia Ind e Co. Ltda, São Paulo – SP – Brasil) em concentrações ascendentes até 100%, por tempo determinado (etanol a 25% por 20 minutos; etanol a 50% por 20 minutos; etanol a 75% por 20 minutos; etanol a 95% por 30 minutos e etanol a 100% por 60 minutos) e mergulhados em *hexamethyldisilazana* (HDMS),

$[(CH_3)_3SiNHSi(CH_3)_3]$, (Electron Microscopy Sciences, Washington 19034 - USA), por 10 minutos (Perdigão *et al.*, 1995). Em seguida, foram depositadas em um Becker (Laborglass Ind. e Co. de materiais para laboratórios Ltda, São Paulo – SP –Brasil), coberto com lenço de papel (Klin Sport/Klabin – Fabricante de papel e celulose – Piracicaba – SP – Brasil) e deixadas à temperatura ambiente por 24 horas.

4.3.1.COBERTURA DOS ESPÉCIMES COM LIGA DE OURO/PALÁDIO E OBSERVAÇÃO EM MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

Após o processamento, metade dos semi-blocos (4 semi-blocos por grupo) foram fixados em suporte de alumínio (stub) por meio de fita dupla face de carbono (Electron Microscopy Sciences, Washington 19034 – USA) e revestidos com liga de ouro/paládio, mediante o processo de metalização, realizado com o equipamento evaporador (Balzers SCD 050 sputter coater, Balzers Union Aktiengesellschaft, Fürstentum Liechtenstein, FL-9496 – Germany), programado com uma corrente de 45mA por 100 segundos (FIG 10).

Assim constituídos, os espécimes foram observados em microscópio eletrônico de varredura (JEOL, JSM – 5600 – JEOL USA, Inc., Peabody, MA 01960 - USA) a uma aceleração de voltagem de 15KV, distância de trabalho (WD – Work Distance) de 20mm e abertura das lentes objetivas (spotsize) de 28nm.

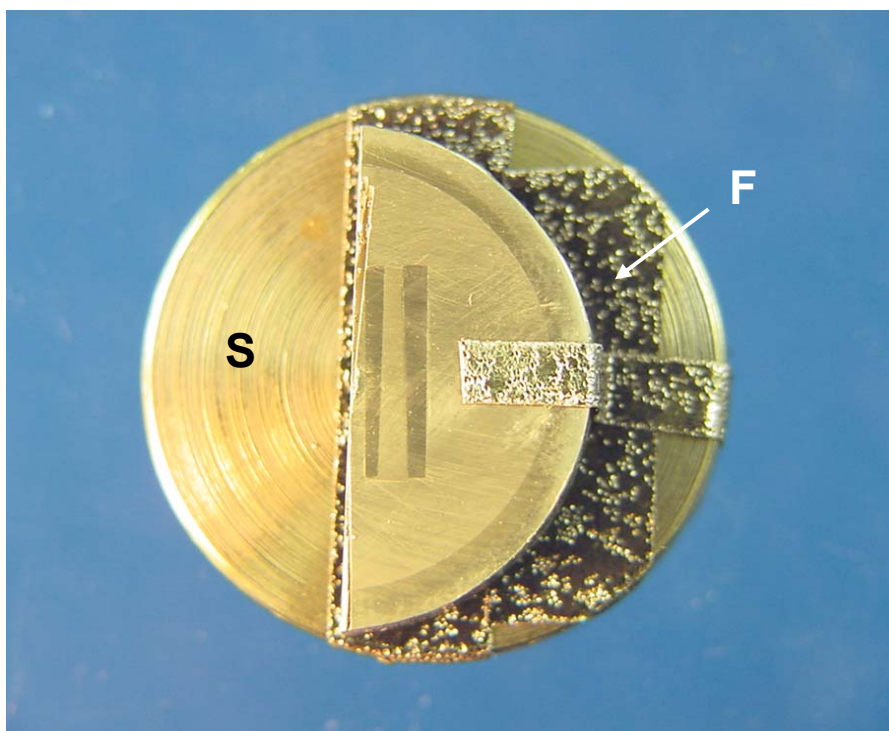


FIGURA 10 – Semi-bloco revestido com ouro paládio. (S) – Stub; (F) – Fita dupla face de carbono.

4.3.2.COBERTURA DOS ESPÉCIMES COM CARBONO E MICROANÁLISE MEDIANTE ESPECTROMETRIA DE ENERGIA DISPERSIVA DE RAIO-X

Os quatro semi-blocos restantes de cada grupo foram fixados em stubs, de modo semelhante ao descrito anteriormente (**item 4.3.1**), e revestidos com carbono (FIG.11) usando equipamento evaporador (MED 010, Balzers Union, Balzers, Liechtenstein, Germany), para observação em microscopia eletrônica de varredura (JEOL, JSM – 5600 – JEOL USA, Inc., Peabody, MA 01960 - USA).

Operando o microscópio eletrônico de varredura, no modo baixo vácuo, e usando elétrons retroespalhados (back-scattered), as regiões de interface de união foram submetidas à microanálise qualitativa e quantitativa empregando espectrometria de energia dispersiva de raios-X (EDS, Programa Vantage, Versão 1.4 – Thermo Noran, Tokyo, Japan). A aceleração de voltagem utilizada foi de 15KV, WD - 16mm, Spotsize - 28nm e área de leitura feita pela sonda de $2\mu\text{m}^2$.

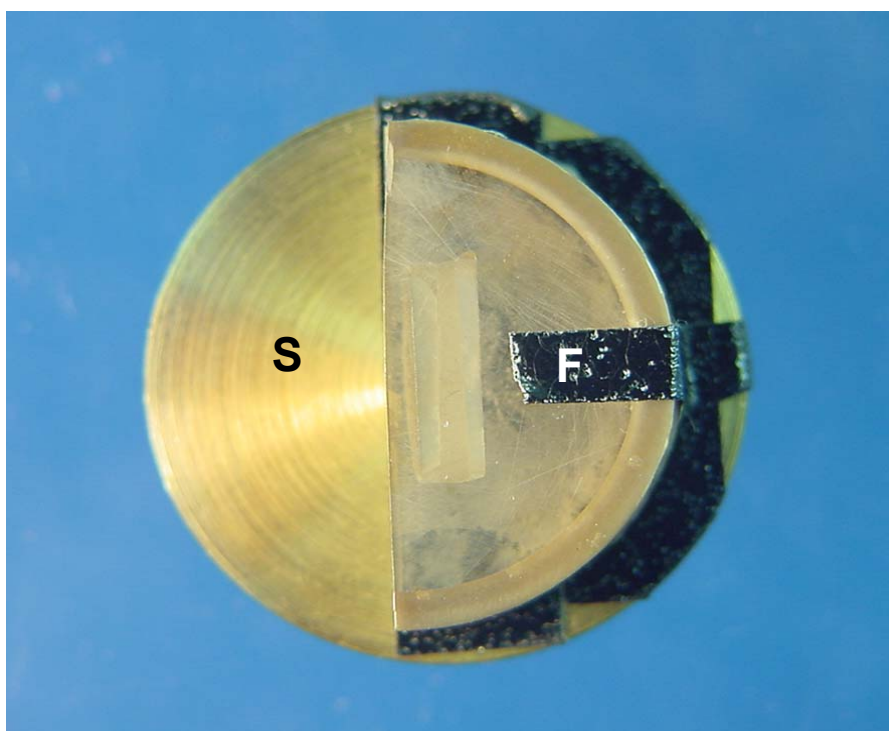


FIGURA 11 – Semi-bloco revestido com carbono. (S) – Stub; (F) – Fita dupla face de carbono.

A sequência técnica utilizada para a realização do estudo micromorfológico em microscopia eletrônica de varredura está representada esquematicamente na Figura 12.

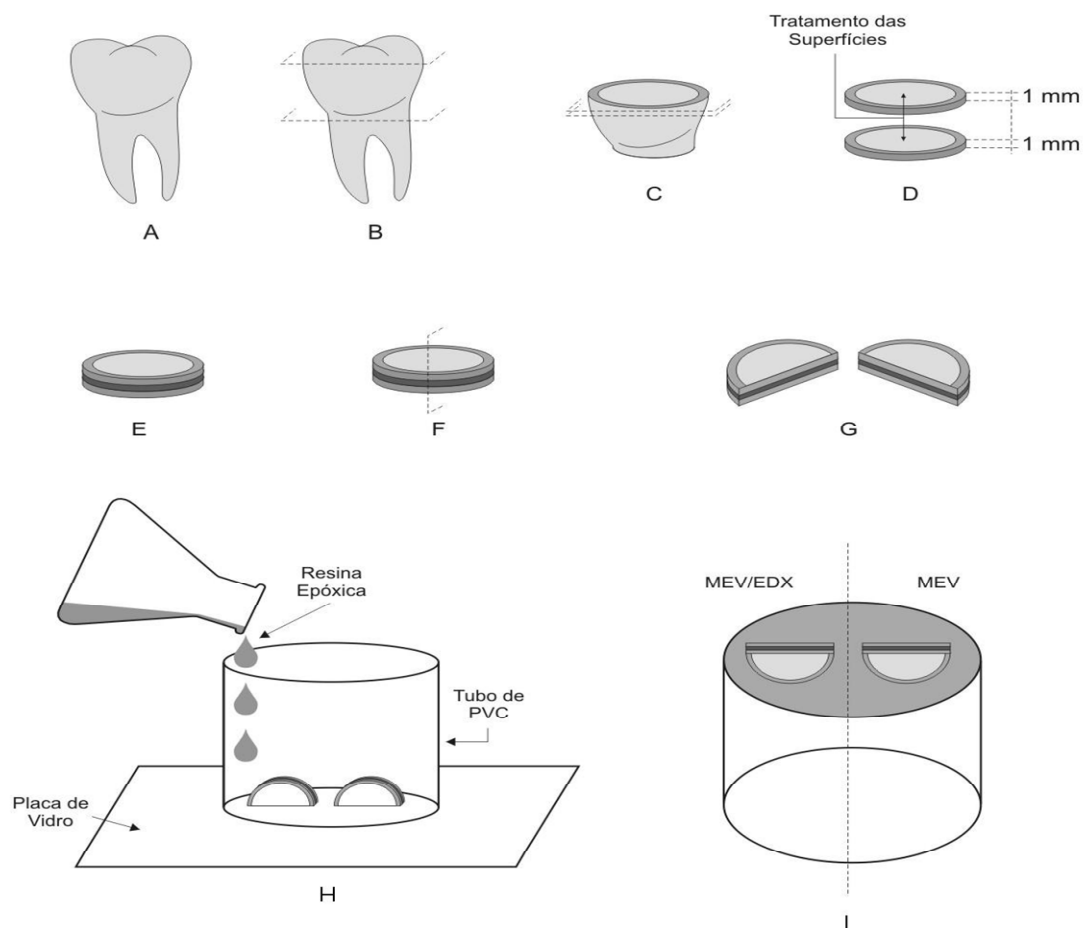


Figura 12 - Dente terceiro molar humano hígido (A); remoção radicular e do esmalte oclusal (B); secções transversais e paralelas entre si a partir da superfície de dentina média (C); produção de dois discos com aproximadamente 1mm de espessura (D); aplicação de uma camada de resina de baixa viscosidade sobre as superfícies adjacentes de cada par de discos, previamente tratadas com um dos sistemas de união empregados no estudo, formando um "sanduíche de resina" (E); secção do "sanduíche de resina" no sentido méso-distal, perpendicularmente à região da interface de união resina-dentina (F); produção de quatro regiões de interface de união, sendo duas em cada hemi-disco (G); inclusão das interfaces de união em resina epóxica com o auxílio de um anel de plástico e placa de vidro (H); secção do bloco de resina epóxica contendo as interfaces de união em dois semi-blocos (I). Um deles utilizado para observação em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), o outro para microanálise por meio de espectrometria de energia dispersiva de raio-X (MEV/EDX).

4.4.PREPARO DOS ESPÉCIMES PARA A ANÁLISE DA INTERFACE DE UNIÃO EM MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO

Para o estudo da interação de união dos sistemas adesivos com a dentina, através de microscopia eletrônica de transmissão, foram utilizados 12 dentes separados em 4 grupos em conformidade com o sistema adesivo empregado. Após a realização das secções descritas no **item 4.1** (FIG.1 e FIG.2), foram executados, sobre a superfície de dentina média dos dentes, os mesmos procedimentos descritos no **item 4.3**, para hibridização do tecido dentinário. Após este tratamento, foi aplicada sobre a camada de adesivo, de todos os dentes, uma quantidade de aproximadamente 1mm de espessura do compósito de baixa viscosidade Clearfil Protect Liner F (Kuraray Co, Osaka, Japan) e fotoativada (Curing Ligth XI 3000 – 3M/ESPE), por 20 segundos (FIG.13). A seguir, os dentes foram armazenados a 37°C (Estufa de Cultura – Fanem Ltda – Modelo 002 CB – SP – Brasil), por 24 horas.



FIGURA 13 – Aplicação da resina de baixa viscosidade Protect Liner F sobre dentina tratada com um dos quatro sistemas de união empregados no estudo.

Posteriormente ao período de armazenagem, as amostras foram submetidas a secções em série, efetuadas no sentido vestibulo-lingual/palatino do dente, perpendiculares à interface de união, por meio de um disco dupla-face de diamante (Extec, Enfield, CT, USA) montado em cortador de precisão (Isomet 1000 – Buehler Ltd. Lake Bluff, IL, USA). Deste modo, foram obtidas secções com aproximadamente 0,8mm de espessura de cada amostra (FIG.14).

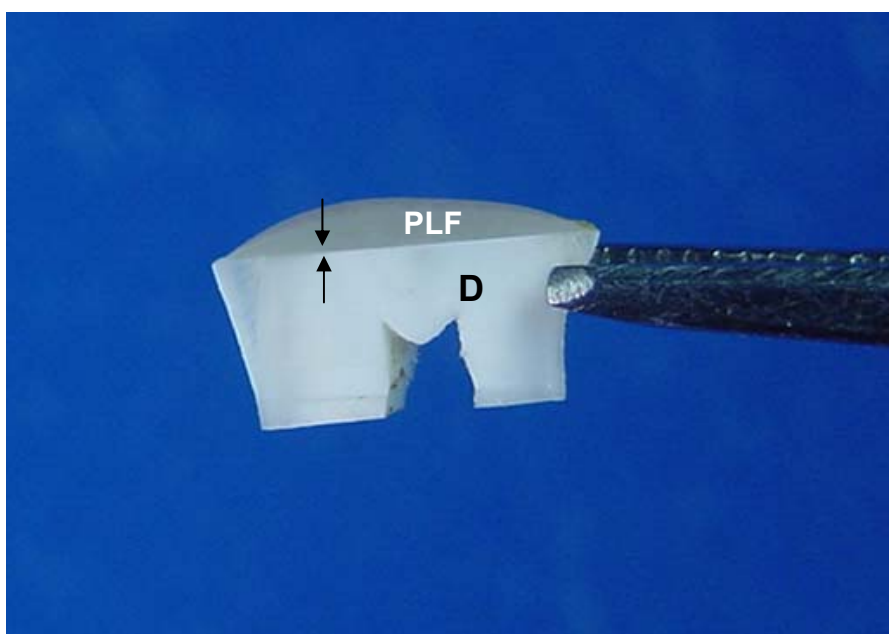


FIGURA 14 – Secção com aproximadamente 0,8mm de espessura. (D) – Dentina; Interface de união (**entre setas**); (PLF) Protect Liner F.

As secções foram submetidas a um processo de fixação mediante o fixador Karnovsky (Glutaraldeído 2,5% e Paraformaldeído 2% em tampão cacodilato 0,1M - pH 7,3), por 1 hora. Após este período, as amostras foram lavadas em solução tampão (0,1M Cacodilato de Sódio - pH 7) - 3 banhos de 10 minutos - e pós-

fixadas em Tetróxido de Ósmio a 1% por 1 hora, em temperatura ambiente. Em sequência, as amostras sofreram nova lavagem, agora em água destilada - 3 banhos de 10 minutos, desidratadas em concentrações ascendentes de etanol até 100% por tempo determinado (30%-10minutos, 50% -10minutos, 70% -10minutos, 90% -10minutos, 100% - 3 banhos de 10minutos cada) e imersas em óxido de propileno, por 30 minutos - 3 banhos de 10 minutos. A seguir, uma resina epóxica para inclusão de amostras (Low viscosity embedding media Spurr's kit - Electron Microscopy Sciences, Fort Washington) foi adicionada ao óxido de propileno (50% óxido de propileno e 50% resina para inclusão) e as amostras mergulhadas neste composto por 8 horas em agitação, no vácuo (E.Mettler, Type H15, Zurich). O óxido de propileno foi utilizado como um fluido de transição, preparando a amostra para ser infiltrada pela resina de inclusão. Por fim, as amostras foram incluídas utilizando a mesma resina epóxica (Low viscosity embedding media Spurr's kit - Electron Microscopy Sciences, Fort Washington) e mantidas em estufa (Estufa de Cultura – Fanem Ltda – Modelo 002 CB – SP – Brasil) a 60⁰C por 24horas.

Uma vez polimerizada a resina de inclusão, as amostras foram desgastadas com lixa de SiC granulação 400 (Carborundum Abrasivos, Recife, PE, Brasil), em politriz sob refrigeração com água (APL-4 Arotec, Cotia, SP, Brasil), de modo a expor a interface de união. Com o auxílio de uma lâmina de barbear (Gillette), a superfície exposta foi reduzida adquirindo um formato trapezoidal, sendo sua base menor constituída pela interface de união, cuja área aproximada foi de 1mm². Em seguida, foram preparadas secções ultrafinas, com aproximadamente 90nm de espessura, da região de interface de união de cada porção, obtidas por meio de uma faca de diamante (Diatome Ltd, Biel/Bienne, Switzerland) montada em ultra micróto mo (Ultramicrotome RMC - modelo MT2C; Sistema de lup as acoplada: Bausch e Lomb, USA) com velocidade de 1,8mm/s (FIG.15).

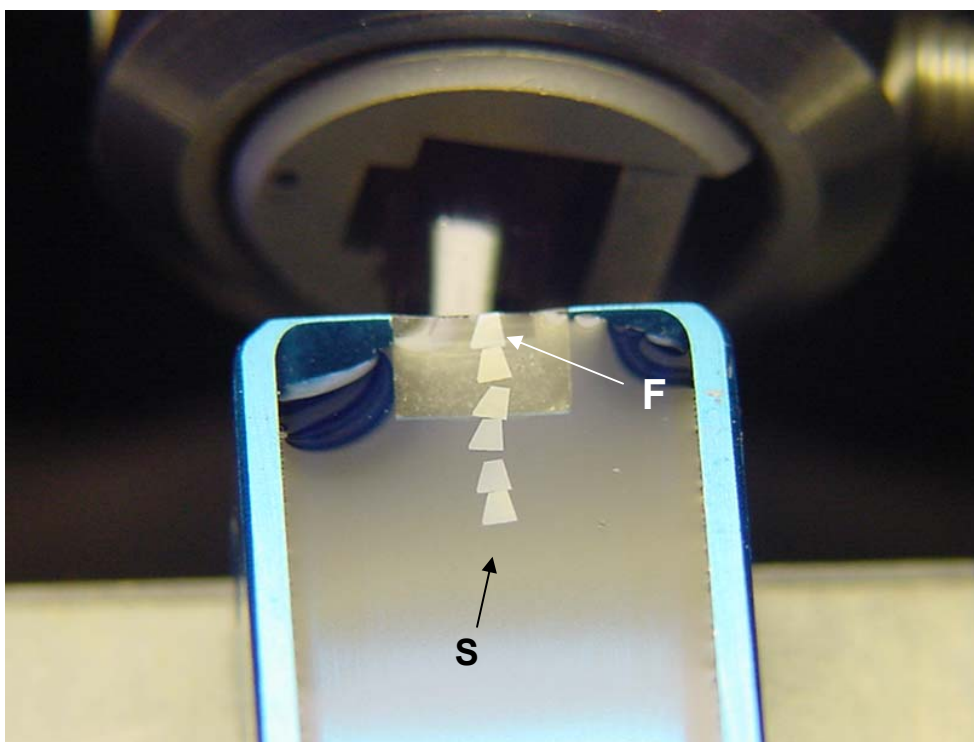


FIGURA 15 – Secções ultrafinas (**S**) da região de interface de união preparadas com o auxílio de faca de diamante (**F**).

As secções com coloração dourada, representativas de cortes com espessura ultrafina adequada (90nm), foram recolhidas com a ajuda de um coletor de amostra específico (Perfect Loop, Electron Microscopy Sciences, Fort Washington) e montadas em grades de cobre tratadas com formvar (FIG.16 - Formvar Support Film Grids, Electron Microscopy Sciences, Fort Washington). Após a secagem em temperatura ambiente, as amostras foram observadas em Microscópio Eletrônico de Transmissão (EM10 Zeiss, West Germany) operando a uma aceleração de voltagem de 80KV.

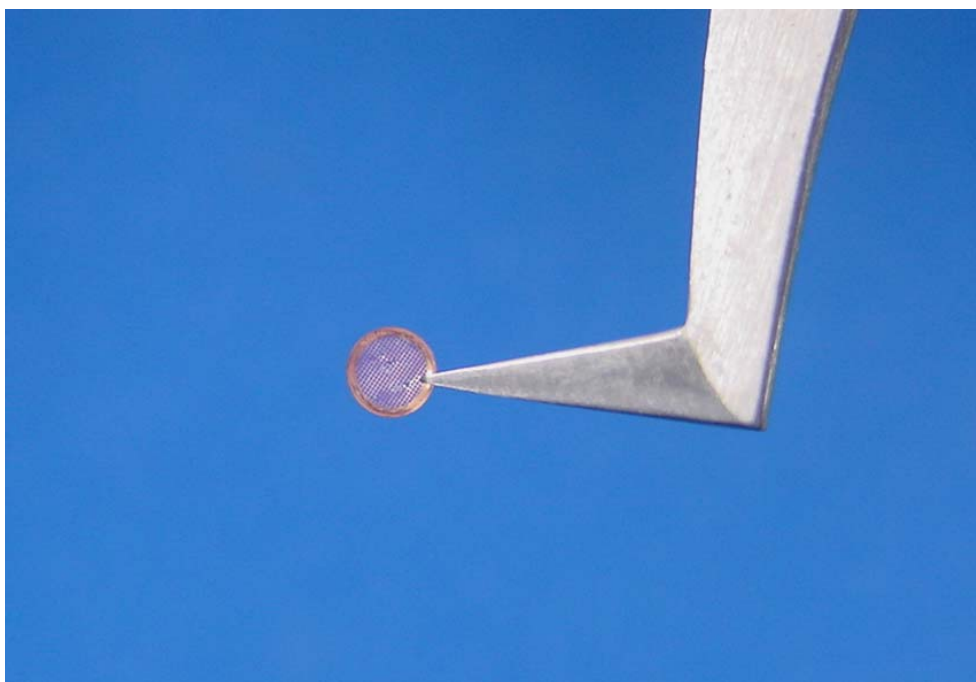


FIGURA 16 – Secções montadas em grade de cobre tratadas com formvar.

4.5.AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA DA UNIÃO À MICROTRAÇÃO

4.5.1.OBTENÇÃO DOS ESPÉCIMES

Para a realização do ensaio de microtração foram utilizados 5 dentes, sendo cada um deles seccionado em quatro partes (FIG.17), mediante dois cortes perpendiculares entre si e realizadas no sentido ocluso-cervical, com o auxílio de disco dupla-face de diamante (Extec, Enfield, CT, USA) montado em cortador de precisão (Isomet 1000 – Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, USA). Em cada quadrante do

mesmo elemento dental foi aplicado um dos sistemas de união utilizados neste estudo. Os procedimentos técnicos empregados para o tratamento das superfícies dentinárias foram os mesmo descritos no **item 4.3**. Em seguida, um bloco de compósito Filtek Z250 (3M Dental Products, St. Paul, MN), na cor A3, foi construído, em incrementos de 2 milímetros, sobre a superfície tratada de cada quarto de dente até se atingir a altura de 6 milímetros, sendo cada incremento fotoativado (Curing Ligth XI 3000 – 3M/ESPE) por 20 segundos (Nakajima *et al.*, 1995). A intensidade de luz foi monitorada por radiômetro (Curing Radiometer Mode 100 – Demetron Research Corporation 5YE Old Road Danbury, CT 06810-7377 – U.S.A.) e encontrava-se entre 400-450 mW/cm². Finalizada a polimerização da última camada de compósito restaurador, procedeu-se o armazenamento das amostras em água destilada a 37°C (Estufa de Cultura – Fanem Ltda – Modelo 002 CB – SP – Brasil) por 24 horas.

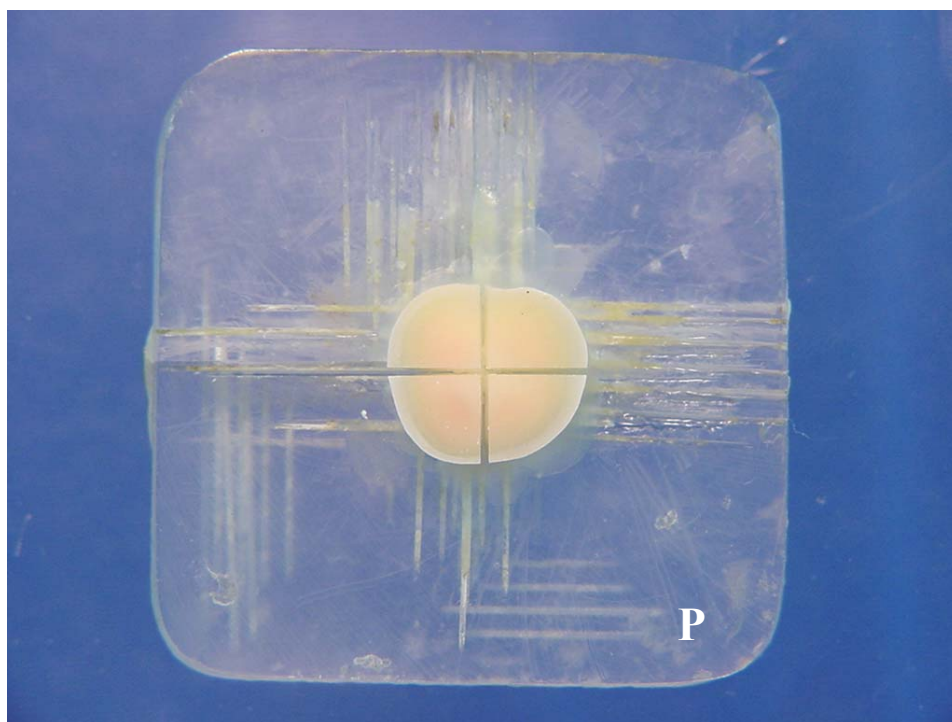


FIGURA 17 – Secção do dente em quatro partes por meio de cortes perpendiculares entre si realizados no sentido ocluso-cervical. (P) – Placa de acrílico.

Decorrido este período, realizou-se a fixação dos quartos de dentes com cera pegajosa (Pason – Indústria e Comércio de Materiais Odontológicos LTDA – Indústria Brasileira) em placa de acrílico (Plexiglass). A porção do bloco de resina localizada sobre o esmalte remanescente foi marcada com caneta de cor preta (Sharpie Fine Point Permanet Marker – Sanford – U.S.A.) para o descarte dos espécimes obtidos nesta região. O conjunto dente-restauração foi levado a um cortador de precisão (Isomet 1000 – Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, USA), onde se executaram secções verticais em série, nas direções méso-distal e vestibulo-lingual, distantes 1mm entre si (FIG.18), com o auxílio de um disco dupla-face de diamante (Extec, Enfield, CT, USA). Os conjuntos segmentados foram removidos da placa de acrílico (Plexiglass) com a ajuda de um disco dupla face de diamante (KG Sorensen, São Paulo - SP – Brasil) em baixa rotação (Dabi-Atlante, Riberão Preto, SP, Brasil). Este procedimento resultou na obtenção de espécimes com formato de bastão ou palito e área de secção transversal medindo, aproximadamente, 1mm^2 . Em uma das extremidades dos palitos se encontrava o compósito restaurador e, na outra, o substrato dentinário. Em cada um dos quadrantes foram obtidos 5 espécimes, totalizando 25 palitos por grupo ($n=25$).

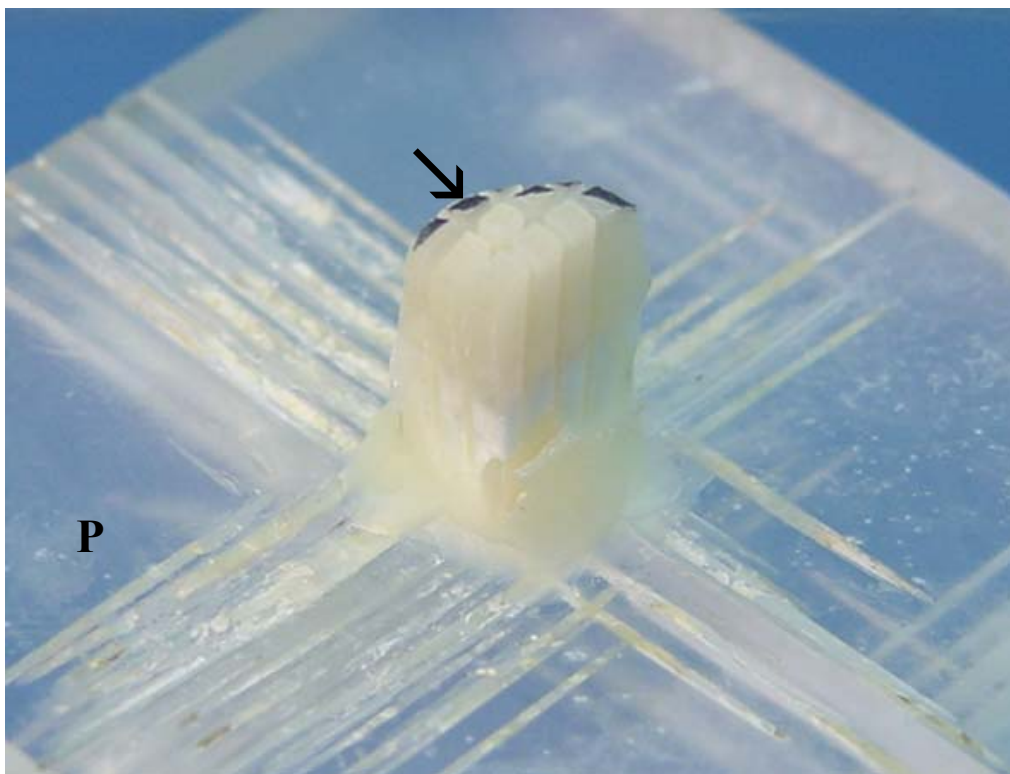


FIGURA 18 – Secções verticais em série na direção méso-distal e vestibulo-lingual, distantes 1mm entre si, obtendo-se espécimes com formato de palito e área de secção transversal de 1mm^2 . Os palitos com a porção superior marcada em preto foram descartados (↘). (P) – Placa de acrílico.

4.5.2. ENSAIO DE MICROTRAÇÃO SOBRE A UNIÃO À DENTINA

Após a obtenção dos espécimes em formato de palito, procedeu-se o armazenamento em água destilada a 37°C por 24 horas em estufa (Estufa de Cultura – Fanem Ltda – Modelo 002 CB – SP – Brasil), até o momento de serem submetidos ao ensaio de microtração. Com o auxílio de uma cola a base de cianoacrilato (Super Bond Gel – Locite Brasil Ltda.) e de uma substância aceleradora de presa (Zapit D.V.A., Corona, CA, USA), os espécimes foram fixados aos *grips* de um dispositivo de microtração (FIG.19). Este dispositivo foi

acoplado a uma máquina universal de ensaio (Instron 4411, Corona, CA, USA) utilizando célula de carga de 500N (Static Load Cell – Instron).

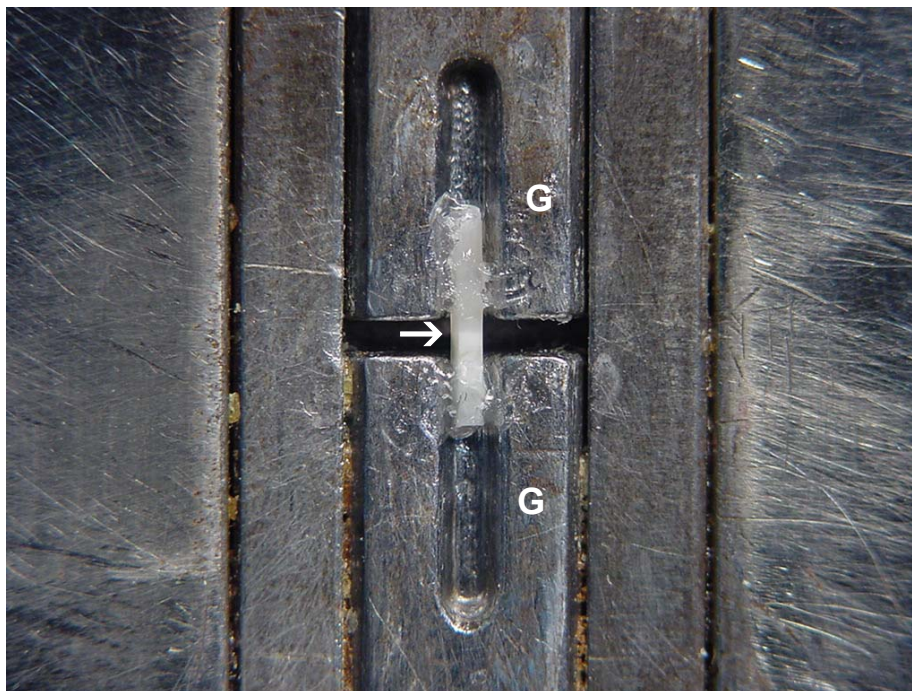


FIGURA 19 – Espécime em forma de palito (→) fixado aos *grips* (G) do dispositivo de microtração.

O ensaio de tração foi conduzido à velocidade de 0,5mm/min até a ruptura do espécime, obtendo-se valores de resistência de união em quilograma-força (**F**). A conversão dos valores em Mega Pascal (**MPa**) foi realizada após a mensuração da área de secção transversal dos espécimes (**A**) com um paquímetro digital eletrônico (Starrett 727 – Starrett Indústria e Comércio LTDA – Itu – SP - Brasil) e os valores submetidos a seguinte fórmula:

$$\frac{\text{Valor de resistência de união em quilograma-força (F)}}{\text{Área do espécime em cm}^2 (\mathbf{A})} = \text{Kgf/cm}^2$$

Cálculo de (**A**):

$$\mathbf{A} = \frac{\text{Área do espécime em mm}^2}{100}$$

$$\text{Kgf/cm}^2 \times 0,098 = \mathbf{MPa}$$

Os resultados obtidos foram submetidos à Análise de Variância um fator e posteriormente, ao Teste de Tukey, com 5% de significância, para se averiguar diferenças estatísticas entre as médias dos valores de resistência à tração. A representação esquemática de toda seqüência técnica utilizada para a realização do ensaio de microtração se encontra na Figura 20.

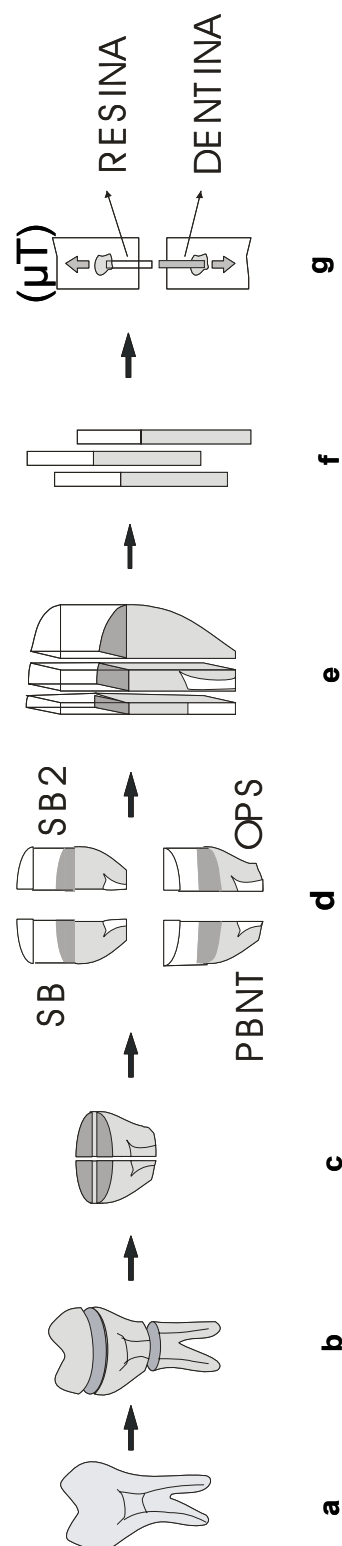


Figura 20 – Dente terceiro molar humano hígido (a); remoção radicular e do esmalte oclusal por meio de secções transversais (b); secções no sentido ocluso-cervical separando o dente em quadrantes (c); aplicação dos sistemas de união e construção de um bloco de compósito sobre a superfície dentinária de cada quadrante (d); secções em série dos conjuntos dente-restauração (e); obtenção dos espécimes em forma de palitos (f); ruptura da interface de união do espécime após ensaio de micro-tração (g).

4.5.3.PREPARO DOS ESPÉCIMES PARA A ANÁLISE DO PADRÃO DE FRATURA

Após a realização do ensaio de microtração, as duas partes de cada espécime fraturado foram armazenadas em eppendorfs (Multi-vials, Electron Microscopy Sciences, Washington 19034 – USA), contendo fixador Karnovsky (Glutaraldeído 2,5% e Paraformaldeído 2% em tampão cacodilato 0,1M - pH 7,3). Em seguida, foram fixadas em “stubs” de alumínio com a ajuda de fita dupla face de carbono (Electron Microscopy Sciences, Washington 19034 – USA) e desumidificados por 2 horas no interior de um recipiente plástico fechado contendo sílica gel previamente desidratada em estufa (Fanem – Estufa de Secagem e Esterilização – Modelo 315 SE – SP – Brasil) a 40°C por 6 horas. Por último, os espécimes receberam cobertura de ouro/paládio (Balzers, modelo SCD 050 sputter coater, Balzers Union Aktiengesellschaft, Fürstentum Liechtenstein, FL-9496 – Germany) e foram analisados em Microscópio Eletrônico de Varredura (JEOL-5600 LV, Japão) a uma aceleração de voltagem de 15 KV, WD=30mm e spotsize 28nm.

Os padrões de fratura encontrados foram classificados conforme os seguintes critérios:

- Tipo I - fratura coesiva no adesivo;
- Tipo II - fratura coesiva na dentina;
- Tipo III - fratura coesiva na camada híbrida;
- Tipo IV - fratura mista: coesiva no adesivo e na camada híbrida.

5-RESULTADOS

5.1.CARACTERIZAÇÃO MICRO-MORFOLÓGICA DA INTERFACE DE UNIÃO RESINA/DENTINA POR MEIO DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA.

A formação de camada híbrida foi identificada com a aplicação dos quatro sistemas de união avaliados neste estudo sobre o tecido dentinário. O aspecto micro-morfológico da região da união formada pelo adesivo Adper Single Bond está ilustrado na Figura 21. A camada híbrida presente é uniforme, com aproximadamente 4µm de espessura, apresentando prolongamentos (*tags*) de resina ao longo de toda a sua extensão. Nota-se semelhança morfológica da porção inicial dos *tags* de resina com o restante da camada híbrida, o que caracteriza o processo de hibridização da dentina peritubular na embocadura dos túbulos dentinários. Uma tênue porção de adesivo encontra-se localizada sobre a camada híbrida, apresentando cerca de 10µm de espessura.

A camada híbrida composta pelo adesivo OptiBond Solo é representada na Figura 22. Apresenta aproximadamente 4µm de espessura com *tags* de resina distribuídos pela região da união. A estrutura híbrida é totalmente “coberta” por uma camada de adesivo com espessura de aproximadamente 10µm.

O sistema de união Prime & Bond NT forma uma camada híbrida com cerca de 4µm de espessura como mostra a Figura 23. *Tags* de resina com pequenos prolongamentos laterais, correspondentes aos canalículos secundários, são identificados. A espessura de adesivo remanescente, localizada sobre a camada híbrida, é delgada, com cerca de 3µm de espessura.

A Figura 24 mostra o aspecto granuloso característico da camada híbrida formada pelo sistema de união Adper Single Bond 2. Esta camada se apresenta com aproximadamente 4µm de espessura e *tags* de resina com aspecto morfológico granular em sua porção basilar, caracterizando o processo de

hibridização nesta região. Formações granulares arredondadas compostas, possivelmente, por material inorgânico podem ser observadas isoladamente no terço médio de alguns prolongamentos. A porção de adesivo localizada sobre a camada híbrida apresenta cerca de 10µm de espessura. Em seu interior, podem ser observados corpos circulares, com cerca de 5µm de diâmetro, compostos pelo agrupamento de estruturas menores semelhantes a vesículas. Tal configuração é, provavelmente, constituída pelo ácido polialquenoico presente na composição do sistema de união.

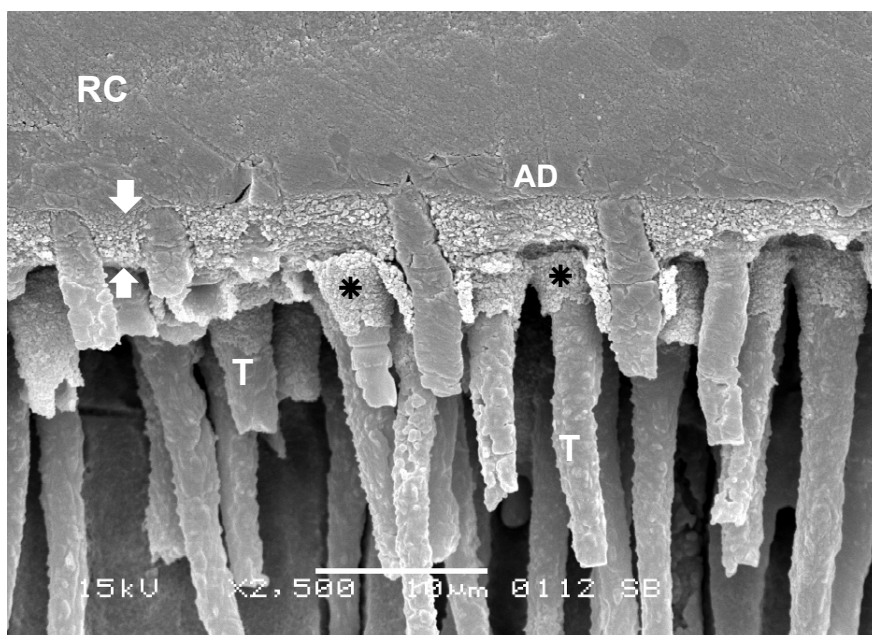


Figura 21 – Fotografia em MEV mostrando o aspecto micro-morfológico da região da união formada pelo adesivo Adper Single Bond sobre a dentina. Pode-se observar uma camada híbrida uniforme com aproximadamente 4µm de espessura (**entre setas**). *Tags* de resina estão presentes ao longo de toda a região da união (**T**). A porção inicial dos *tags* de resina possui aspecto morfológico semelhante ao da camada híbrida (*). A camada de adesivo localizada sobre a camada híbrida apresenta cerca de 10µm de espessura (**AD**). **RC** – Resina composta.

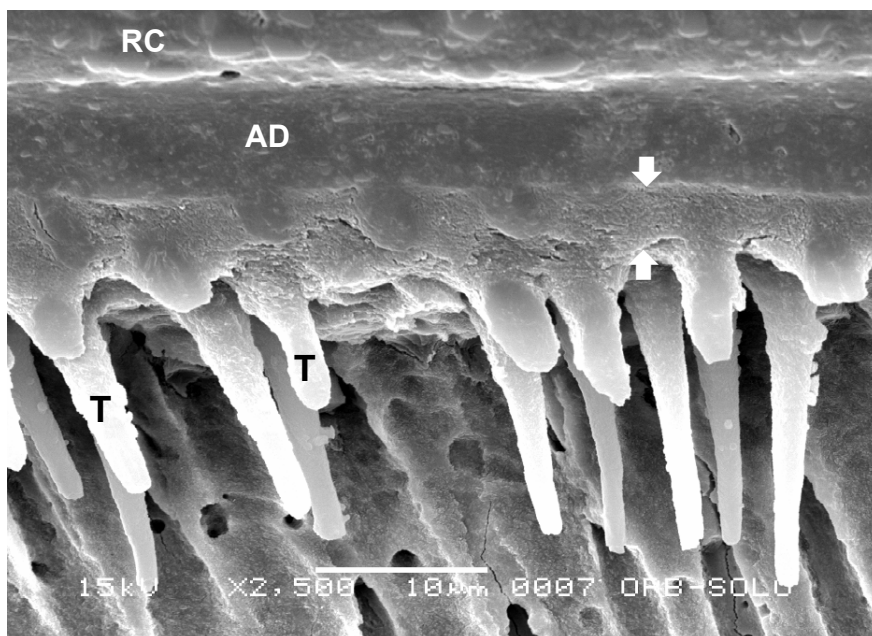


Figura 22 – Fotografia em MEV mostrando o aspecto micro-morfológico da região da união formada pelo adesivo OptiBond Solo sobre a dentina. A camada híbrida formada apresenta aproximadamente 4µm de espessura (**entre setas**) com *tags* de resina distribuídos pela região da união (**T**). A porção de adesivo que “cobre” a camada híbrida apresenta espessura aproximada de 10µm (**AD**). **RC** – Resina composta.

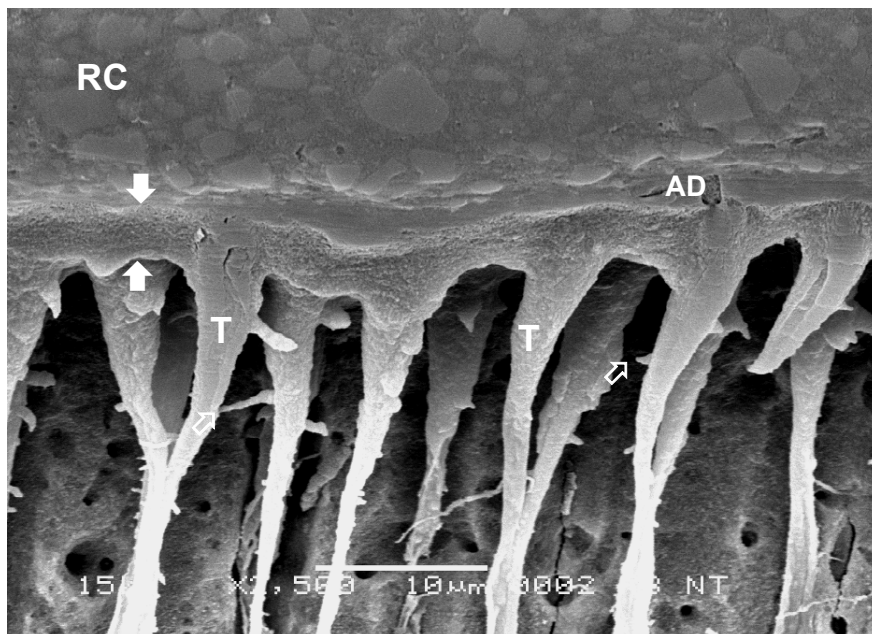


Figura 23 - Fotografia em MEV mostrando o aspecto micro-morfológico da região da união formada pelo adesivo Prime & Bond NT sobre a dentina. A camada híbrida formada apresenta aproximadamente 4µm de espessura (**entre setas verticais**). Tags de resina (T) com a presença de prolongamentos laterais correspondentes aos canalículos secundários (↗) são identificados. A camada de adesivo remanescente sobre a camada híbrida é delgada, apresentando cerca de 3µm de espessura (AD). RC – Resina composta.

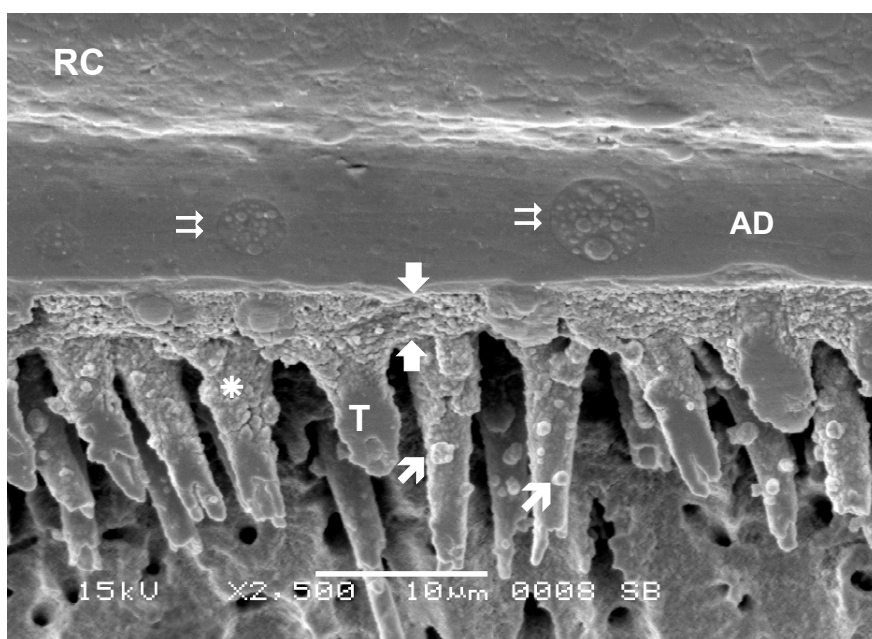


Figura 24 - Fotografia em MEV mostrando o aspecto micro-morfológico da região da união formada pelo adesivo Adper Single Bond 2 sobre a dentina. Observa-se uma camada híbrida com aspecto granuloso e espessura de aproximadamente 4µm (**entre setas verticais**). Tags de resina estão presentes ao longo de toda a região da união (T) e apresentam aspecto morfológico granular na porção basilar (*). Formações granulares podem ser identificadas isoladamente no terço médio de alguns prolongamentos (↗). Estruturas circulares com cerca de 5µm de diâmetro formadas pelo agrupamento de pequenas “vesículas” (⇒) podem ser observadas na camada de adesivo (AD) que apresenta aproximadamente 10µm de espessura e “reveste” a camada híbrida. RC – Resina composta.

5.2.MICRO-ANÁLISE QUALITATIVA E QUANTITATIVA DAS INTERFACES DE UNIÃO RESINA/DENTINA POR MEIO DE ESPECTROMETRIA DE ENERGIA DISPERSIVA DE RAIO-X EM MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA.

A micro-análise da camada híbrida formada pelos sistemas de união Adper Single Bond, OptiBond Solo, Prime & Bond NT e Adper Single Bond 2 com a dentina é representada pelas Figuras 25, 26, 27 e 28, respectivamente. O elemento químico Carbono está presente em todas as avaliações. Justifica-se a frequência do Carbono nas análises pelo fato das amostras receberem este componente químico após processamento.

O mapeamento atômico da camada híbrida, formada pelo sistema de união Adper Single Bond, aponta o elemento químico Cálcio como o principal componente desta estrutura, seguido pelo Fósforo. Os elementos químicos Cloro e Oxigênio são encontrados em quantidades reduzidas (FIG.25).

Os elementos químicos Cálcio e Fósforo também são predominantes na camada híbrida formada pelo adesivo OptiBond Solo, estando o Cloro e o Oxigênio minimamente presentes. Micropartículas de carga são observadas na embocadura dos túbulos dentinários e a identificação de Silício nesta região confirma a presença do material inorgânico (FIG.26).

O sistema de união Prime & Bond NT forma camada híbrida com predominância do elemento químico Cálcio. Apesar das partículas inorgânicas do adesivo não estarem visíveis, a presença de Silício identificada na embocadura dos túbulos dentinários, em quantidade inclusive superior à do elemento químico Fósforo, indica a presença de carga nessa região (FIG.27).

A camada híbrida formada pelo sistema de união Adper Single Bond 2 é constituída predominantemente por Cálcio, seguido por Fósforo. O seu aspecto granular sugere a presença de material inorgânico em toda a estrutura, o que se confirma com a presença de Silício, inclusive entre os túbulos dentinários. Os elementos químicos Sódio e Oxigênio são encontrados em quantidades mínimas (FIG.28).

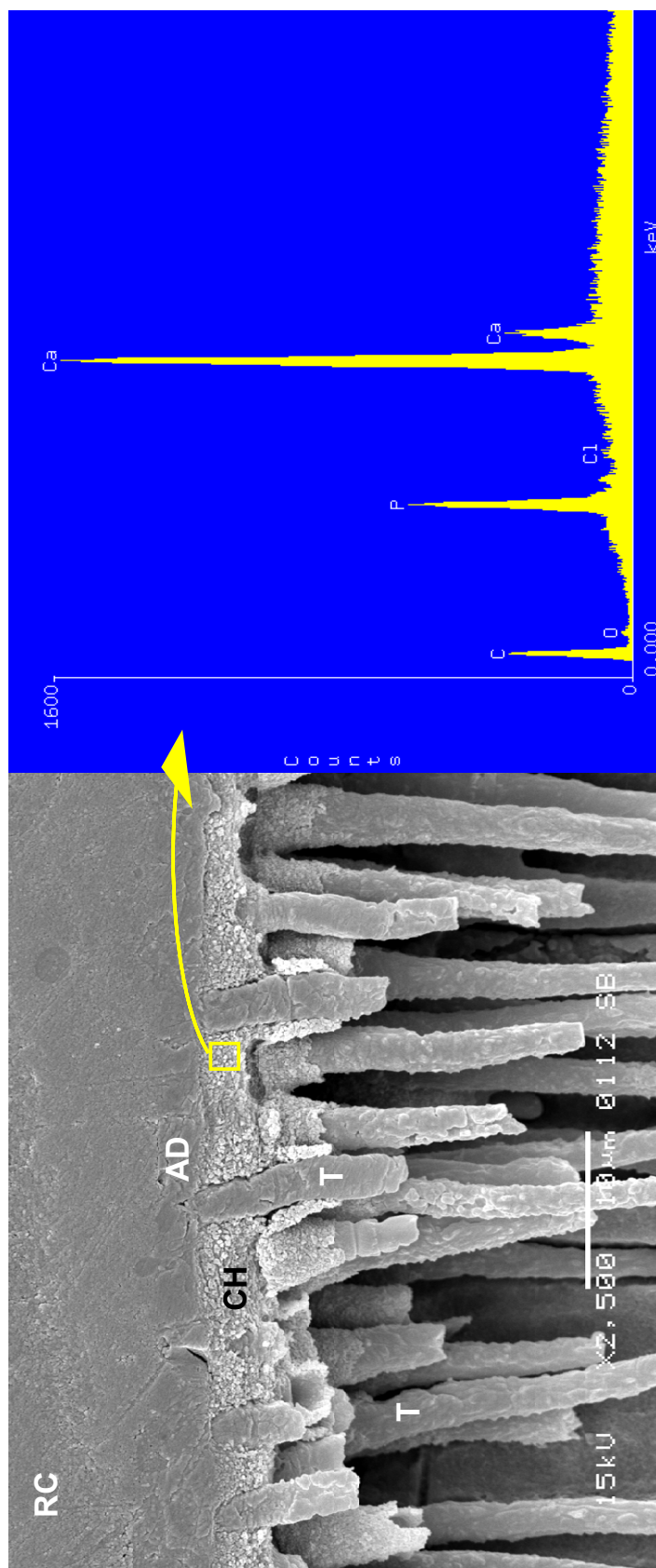


Figura 25— Fotografia em MEV da região da união formada pelo adesivo Adper Single Bond em que se realizou micro- análise qualitativa e quantitativa da região delimitada pela marcação quadrangular (□). O Cálcio é o principal elemento químico identificado, seguido pelo Fósforo. Os elementos Cloro e Oxigênio são encontrados em pequenas quantidades. A presença de Carbono é apontada em função do processo de cobertura da amostra com este elemento químico. **RC** – Resina Composta; **AD** – Adesivo; **CH** – Camada-híbrida e **T** – Tags de resina.

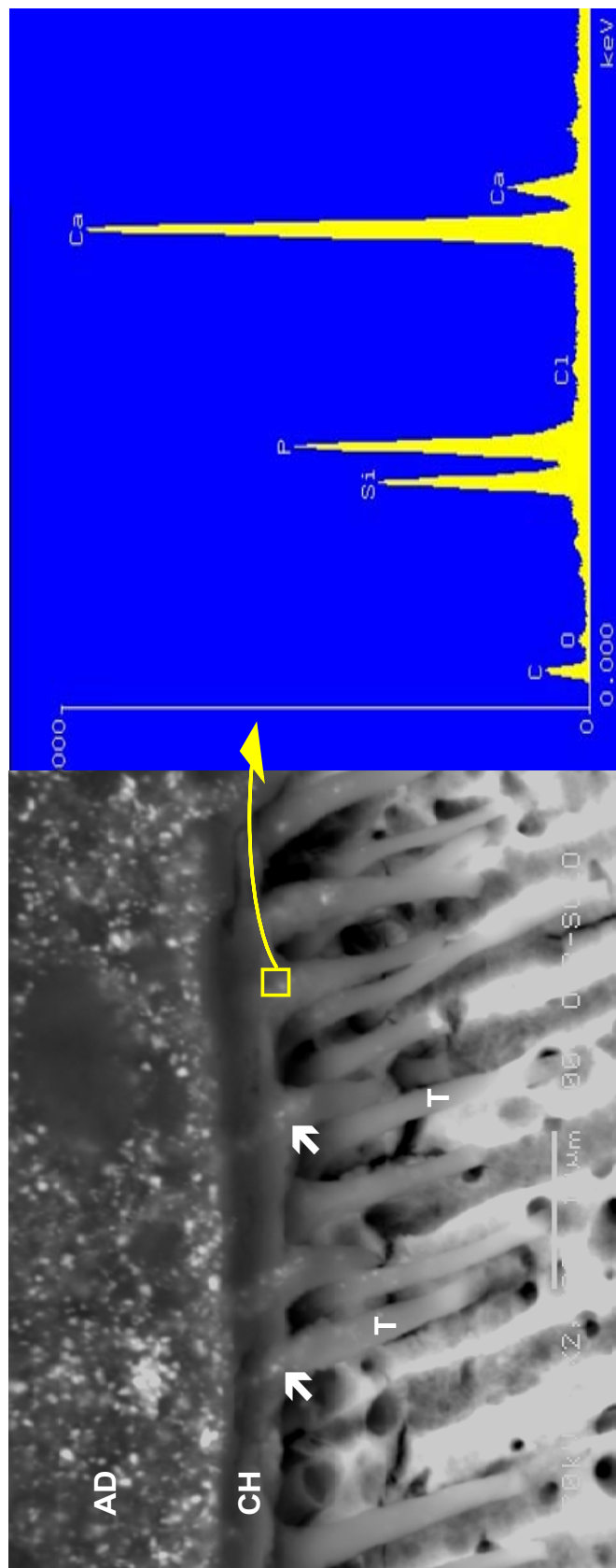


Figura 26 – Fotografia em MEV da região da união formada pelo adesivo OptiBond Solo em que se realizou micro-análise qualitativa e quantitativa da região delimitada pela marcação quadrangular (\square). Os elementos químicos Cálcio e Fósforo são os principais componentes encontrados. O Cloro e o Oxigênio estão minimamente presentes. Micro-partículas de carga são observadas na embocadura dos túbulos dentinários (\blacktriangleright). A presença de Silício nesta região ratifica a presença do material inorgânico. A presença de Carbono é apontada em função do processo de cobertura da amostra com este elemento químico. **AD** – Adesivo; **CH** – Camada-híbrida e **T** – Tags de resina.

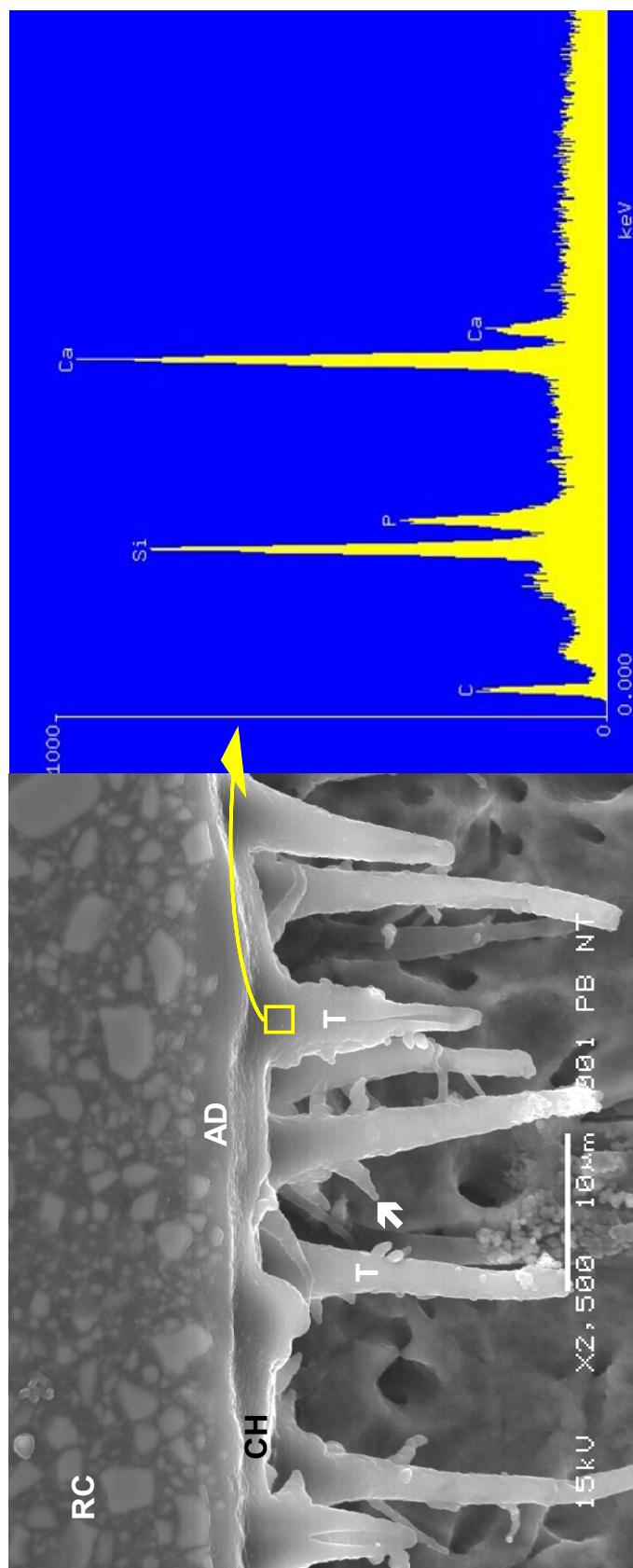


Figura 27 – Fotografia em MEV da região da união formada pelo adesivo Prime Bond NT em que se realizou micro-análise qualitativa e quantitativa da região delimitada pela marcação quadrangular (\square). O Cálcio é o elemento químico predominantemente encontrado. A presença acentuada de Silício, superior inclusive à de Fósforo, indica a penetração de carga do sistema de união na embocadura dos túbulos dentinários. A identificação de Carbono ocorre devido ao processo de cobertura da amostra com este elemento químico. **RC** – Resina Composta; **AD** – Adesivo; **CH** – Camada-híbrida; **T** – Tags de resina e (\curvearrowright) – Prolongamentos laterais.

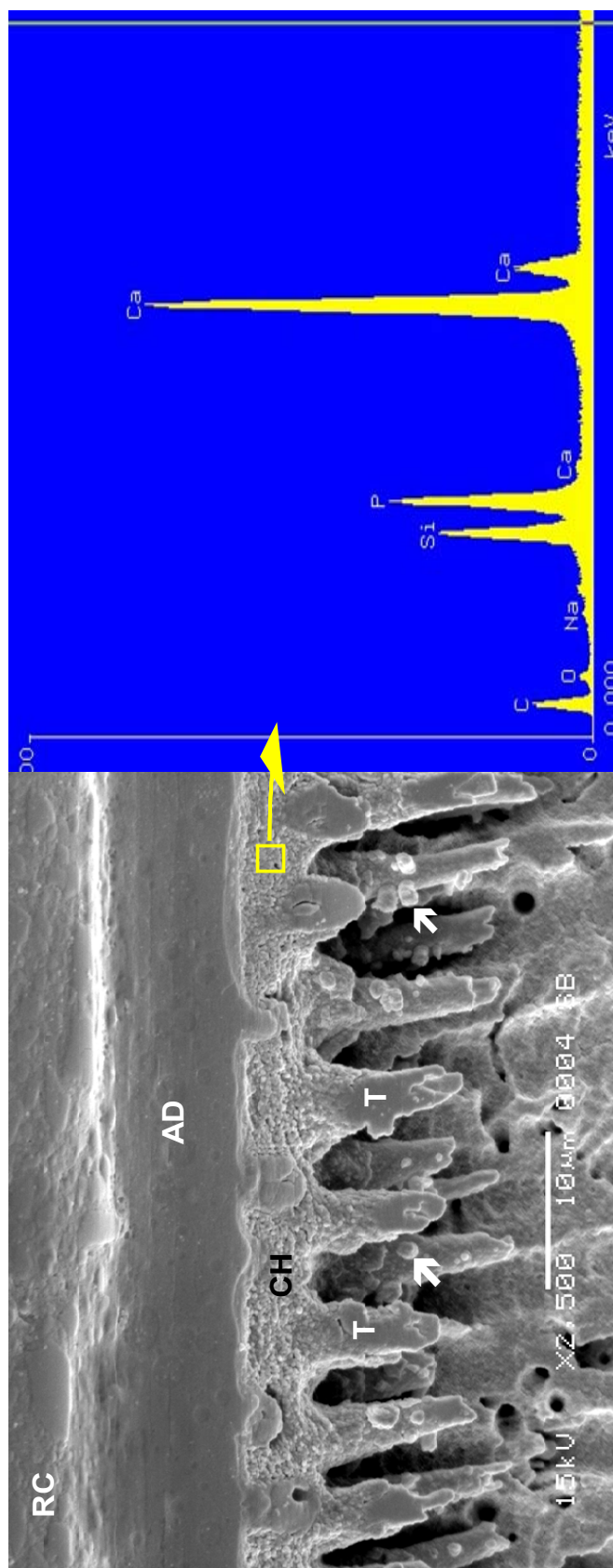


Figura 28 – Fotografia em MEV da região da união formada pelo adesivo Adper Single Bond 2 em que se realizou micro-análise qualitativa e quantitativa da região delimitada pela marcação quadrangular (\square). O Cálcio e o Fósforo são os elementos químicos predominantemente encontrados. O aspecto granular da camada-híbrida sugere a presença de material inorgânico em toda a sua extensão, o que se confirma com a identificação de Silício inclusive na porção intertubular. Os elementos químicos Sódio e Oxigênio são encontrados em quantidades desprezíveis. A identificação de Carbono ocorre devido ao processo de cobertura da amostra com este elemento químico. **RC** – Resina Composta; **AD** – Adesivo; **CH** – Camada-híbrida, **T** – Tags de resina e (\blacktriangleright) – Formações granulares.

5.3.CARACTERIZAÇÃO MICRO-MORFOLÓGICA DA INTERFACE DE UNIÃO RESINA/DENTINA ATRAVÉS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO.

Representações fotográficas em microscopia eletrônica de transmissão da região da união resina/dentina, formadas com os adesivos Adper Single Bond, OptiBond Solo, Prime & Bond NT e Adper Single Bond 2, serão descritas nesta ordem. As Figuras 29 e 30 apresentam imagens obtidas com o sistema de união Adper Single Bond. A porção superior da Figura 29 mostra a resina de baixa viscosidade Protect Liner F, caracterizada pela presença de partículas inorgânicas com dimensões nanométricas distribuídas ao longo de toda sua extensão. Subjacente a esta estrutura, observa-se uma camada do adesivo Adper Single Bond onde se identifica formações com contornos arredondados compostas, provavelmente, pelo agrupamento de moléculas do ácido polialcenóico. Logo abaixo, encontra-se uma camada híbrida com aproximadamente 10µm de espessura contendo *tags* de resina em toda sua extensão. Remanescentes da lama dentinária não estão presentes. Inferiormente à camada híbrida encontra-se dentina com imagem compatível com a de tecido íntegro, não atingido pelo condicionamento ácido durante o processo de hibridização. A análise em maior aumento da camada híbrida (Figura 30) permite identificar a matriz orgânica da dentina desmineralizada, constituída principalmente por fibrilas de colágeno envolvidas pelos monômeros resinosos do adesivo. Ainda nesta aproximação, pode-se observar a extensão da camada híbrida em direção às paredes laterais dos túbulos dentinários, constituindo um padrão de hibridização tubular em forma de “funil”.

A Figura 31 mostra a região da união composta pelo adesivo OptiBond Solo com a dentina. A camada híbrida exibe espessura de aproximadamente 10µm. Partículas inorgânicas com dimensões de 0,6µm (em média) podem ser identificadas em toda a camada do adesivo. Estas partículas estão presentes também na embocadura de alguns túbulos dentinários, compondo *tags* de resina acrescidos por material inorgânico. No entanto, estas partículas não penetraram

nos espaços interfibrilares da camada híbrida, que foi infiltrada apenas pela porção orgânica do adesivo (Figura 32).

A região da união formada pelo adesivo Prime & Bond NT é mostrada pela fotomicrografia da Figura 33. A camada do adesivo é caracterizada pela presença de nanopartículas inorgânicas. Os túbulos dentinários estão patentes e desprovidos de lama dentinária (*smear plug*). As nanopartículas penetraram em alguns dos túbulos expostos, compondo *tags* de resina contendo material inorgânico. A camada híbrida apresenta aproximadamente 10µm de espessura e não são identificadas partículas inorgânicas no seu interior. Em maior aumento (Figura 34), pode-se observar que há uma tendência das partículas nanométricas se aglomerarem, formando estruturas maiores denominadas *clusters*. Estas estruturas penetram nos túbulos dentinários e se concentram, mas não infiltram nos espaços interfibrilares da camada híbrida, preenchidos apenas pelos monômeros resinosos. Os túbulos dentinários também são atingidos pelo processo de hibridização constituindo um arcabouço em forma de “funil”.

A interação do sistema de união Adper Single Bond 2 com o tecido dentinário está ilustrada na Figura 35. Em toda a extensão da camada de adesivo pode-se observar partículas nanométricas distribuídas uniformemente. Algumas estruturas arredondadas compostas, provavelmente, pelo agrupamento de moléculas do ácido polialcenóico também são identificadas nesta região. A camada híbrida apresenta aproximadamente 10µm de espessura. A infiltração das partículas nanométricas do adesivo nos túbulos dentinários é evidente, formando *tags* de resina contendo material inorgânico. A concentração das partículas nanométricas no interior dos túbulos dentinários é semelhante à observada na camada do adesivo. Uma análise minuciosa da camada híbrida em grande aumento (Figura 36) permite identificar as partículas inorgânicas do adesivo entre as fibrilas de colágeno. Não foi identificada agregação de partículas. Pelo contrário, elas infiltram nos espaços interfibrilares e permanecem uniformemente distribuídas na camada híbrida. Algumas partículas inorgânicas maiores, localizadas no topo da camada híbrida, também podem ser observadas. Estas estruturas são, provavelmente, remanescentes do condicionador ácido dentinário

em gel (Scotchbond 3M/ESPE), que apresenta a sílica como espessante em sua composição.

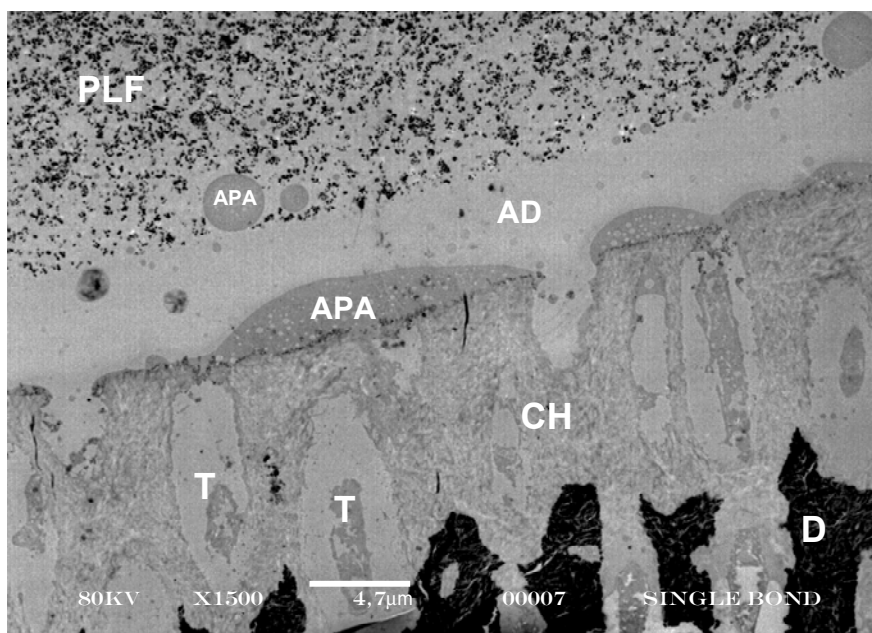


Figura 29 - Fotografia em MET obtida de espécime não desmineralizado e não corado mostrando o aspecto micro-morfológico da região da união formada pelo adesivo Adper Single Bond com a dentina. Na porção superior vê-se a resina Protect Liner F (**PLF**) com partículas inorgânicas micrométricas dispersas uniformemente. A camada do adesivo (**AD**) é nitidamente distinguível da camada híbrida, que apresenta aproximadamente 10µm de espessura (**CH**) e tags de resina (**T**) distribuídos ao longo de toda sua extensão. **APA** – Sugestiva de ácido polialcenóico; **D** – dentina.

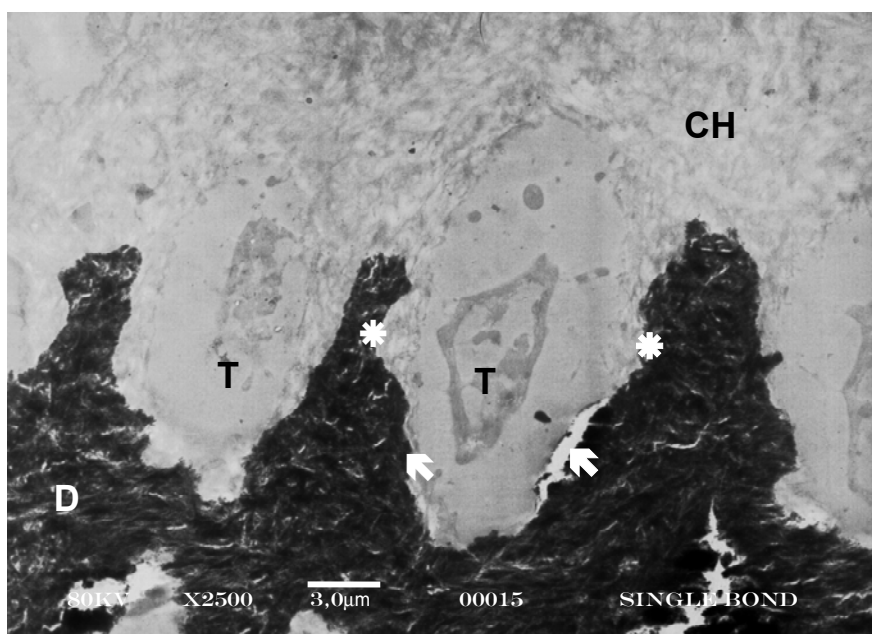


Figura 30 - Fotografia em MET obtida de espécime não desmineralizado e não corado mostrando o aspecto micro-morfológico da camada híbrida (**CH**) formada pelo adesivo Adper Single Bond com a dentina. Uma malha orgânica, composta principalmente por fibrilas de colágeno envolvidas pelos monômeros resinosos do adesivo, é evidente em toda a camada híbrida. Nota-se que a porção interna dos túbulos dentinários também foi hibridizada (*), constituindo um padrão tubular com paredes em forma de “funil” (↖). (**T**) – Tag de resina, (**D**) – Dentina.

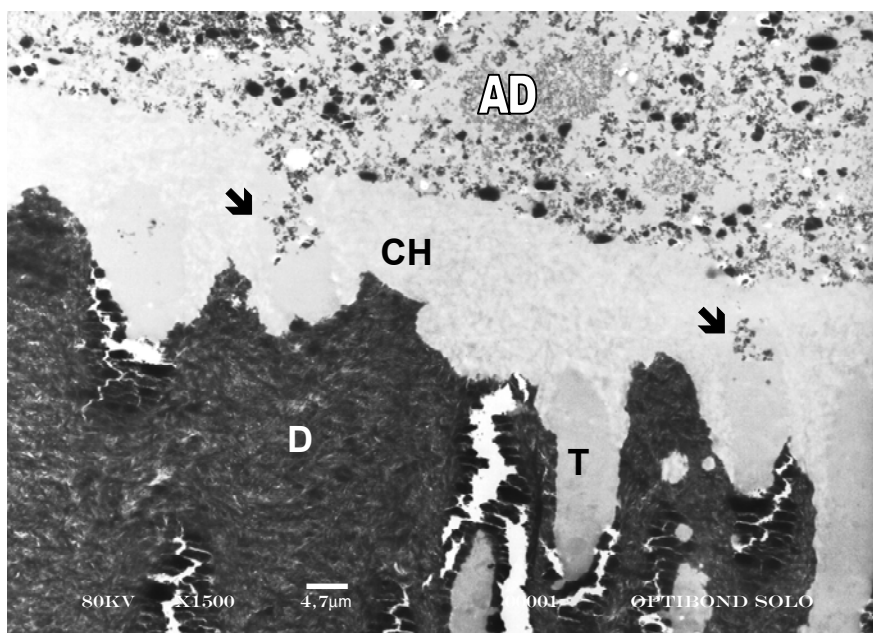


Figura 31 - Fotografia em MET obtida de espécime não desmineralizado e não corado mostrando o aspecto micro-morfológico da região da união formada pelo adesivo Optibond Solo com a dentina. Uma camada híbrida (CH) uniforme com aproximadamente 10µm de espessura pode ser observada. Partículas inorgânicas, evidentes em toda a camada do adesivo (AD), conseguem penetrar apenas na porção inicial de alguns túbulos dentinários (↘). (T) – Tag de resina, (D) – Dentina.

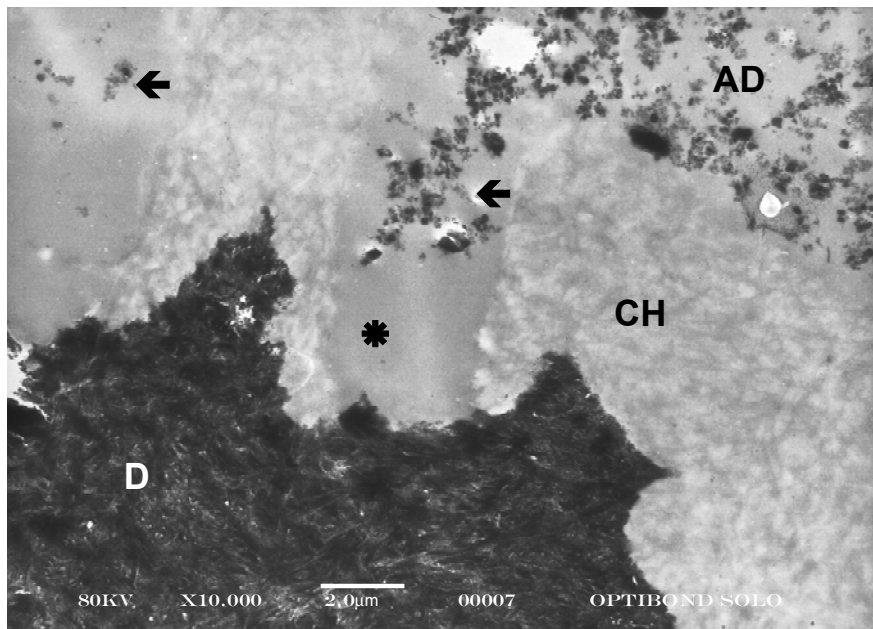


Figura 32 - Fotografia em MET obtida de espécime não desmineralizado e não corado mostrando o aspecto micro-morfológico da camada híbrida (CH) formada pelo sistema de união Optibond Solo com a dentina. Observa-se claramente que as partículas inorgânicas do adesivo (AD) penetram somente na embocadura dos túbulos dentinários (↙). A porção restante dos túbulos (*) e os espaços interfibrilares da camada híbrida são preenchidos apenas pelos monômeros resinosos do adesivo. (D) – Dentina.

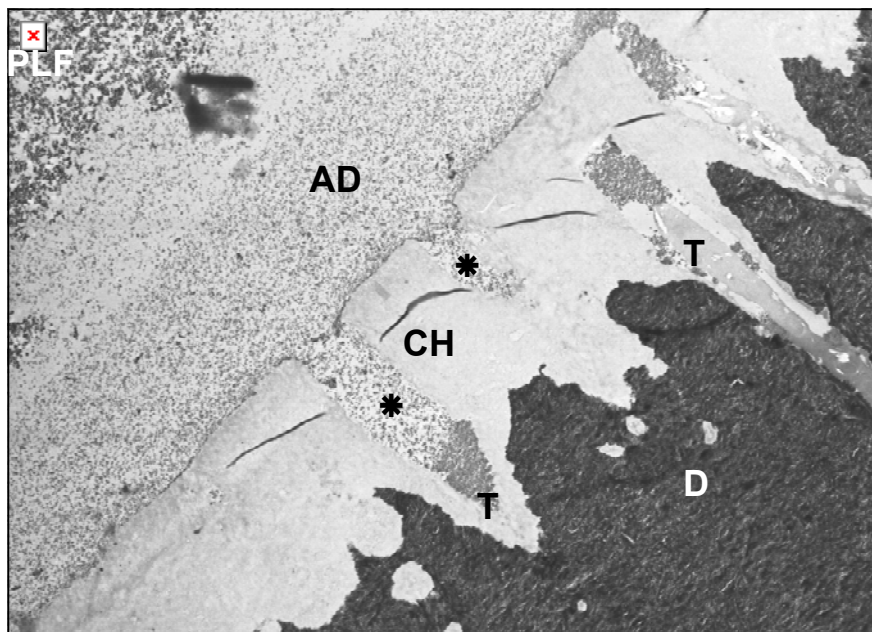


Figura 33 - Fotografia em MET obtida de espécime não desmineralizado e não corado mostrando o aspecto micro-morfológico da região da união formada pelo adesivo Prime & Bond NT com a dentina. Na porção superior da imagem localiza-se a resina Protect Liner F (PLF). Ela contém partículas inorgânicas com dimensões superiores em relação às partículas identificadas na camada de adesivo subjacente. A camada híbrida (CH) apresenta aproximadamente 8µm de espessura. As partículas inorgânicas do adesivo penetram abundantemente no interior dos túbulos dentinários (*) compondo tags (T) contendo material inorgânico. (D) – Dentina.

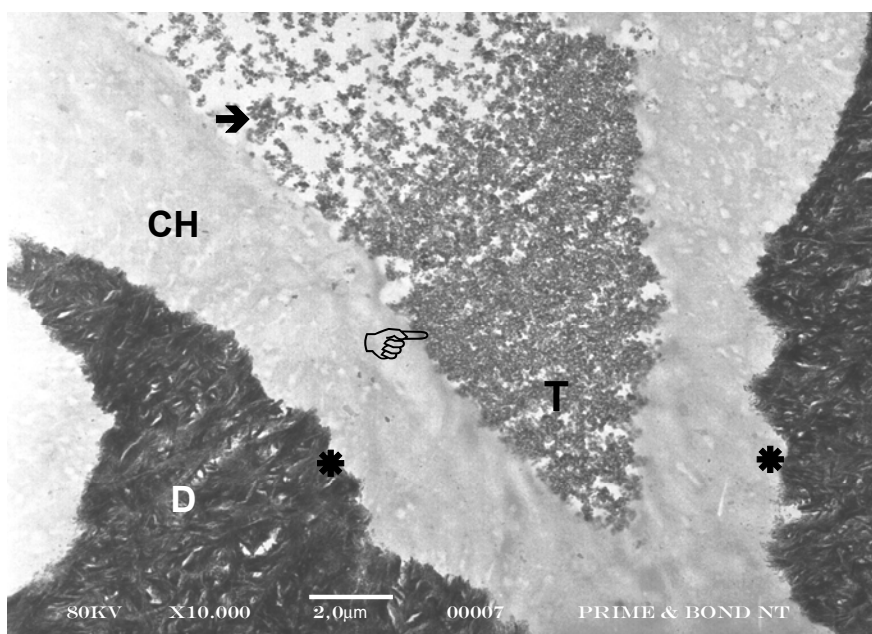


Figura 34 - Fotografia em MET obtida de espécime não desmineralizado e não corado mostrando o aspecto micro-morfológico da camada híbrida (CH) formada pelo adesivo Prime & Bond NT com a dentina. Observa-se agregação de partículas nanométricas formando *clusters* (→), que se concentram na porção final do túbulo dentinário (☞). Não há penetração de partículas nos espaços interfibrilares da camada híbrida, sendo preenchidos apenas pelos monômeros resinosos do adesivo. O padrão de hibridização tubular (*) compõe uma estrutura semelhante a um funil. (T) – Tag, (D) – Dentina.

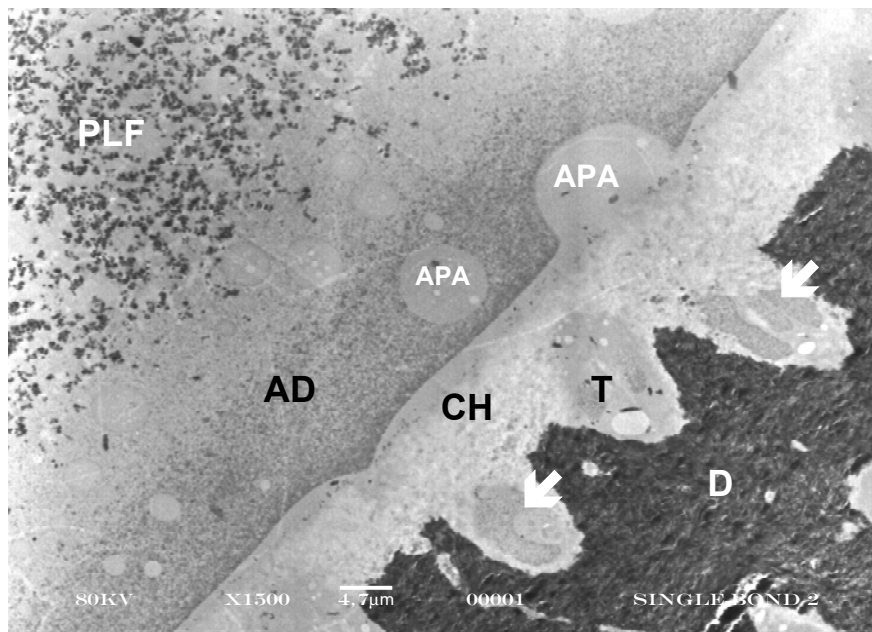


Figura 35 - Fotografia em MET obtida de espécime não desmineralizado e não corado mostrando o aspecto micro-morfológico da região da união formada pelo adesivo Adper Single Bond 2 com a dentina. A camada do adesivo (AD) é caracterizada pela presença de partículas nanométricas dispersas em toda a sua extensão. A camada híbrida (CH) apresenta aproximadamente 10µm de espessura. É patente a penetração das partículas inorgânicas do adesivo no interior dos túbulos dentinários (↙) compondo os tags de resina (T). A concentração de partículas no interior dos túbulos é semelhante à da camada de adesivo, não havendo agrupamento inorgânico. (PLF) – Protect Liner F, (APA) – Sugestiva de ácido polialcenóico; (D) – dentina.

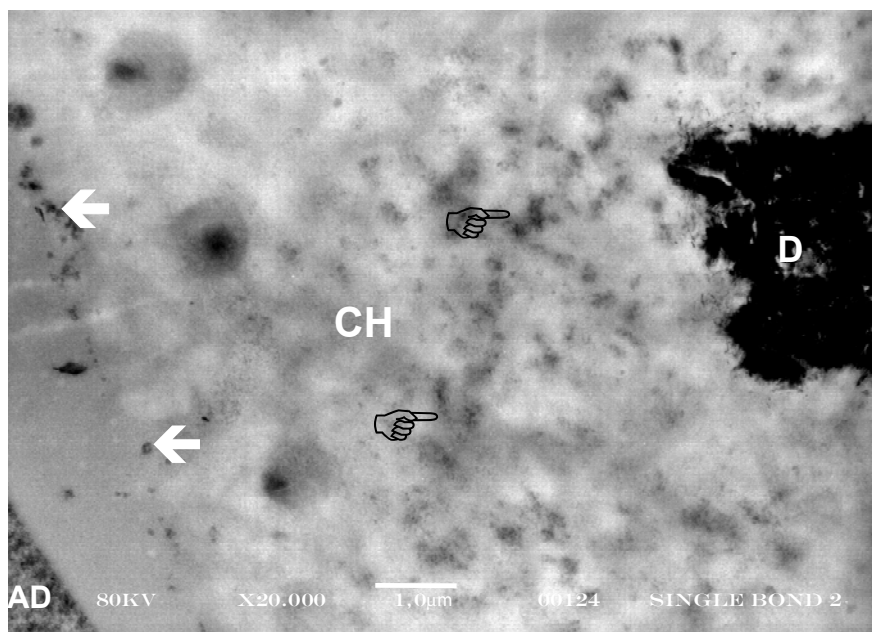


Figura 36 - Fotografia em MET obtida de espécime não desmineralizado e não corado mostrando o aspecto micro-morfológico da camada híbrida (CH) formada pelo adesivo Adper Single Bond 2. Partículas inorgânicas com dimensões extremamente reduzidas podem ser identificadas nos espaços interfibrilares em toda a extensão da camada híbrida (↗). No topo da camada híbrida estão localizadas partículas inorgânicas micrométricas (↖) remanescentes, provavelmente, do condicionador ácido dentinário. (AD) – Adesivo, (D) – Dentina.

5.4. ENSAIO DE MICROTRAÇÃO

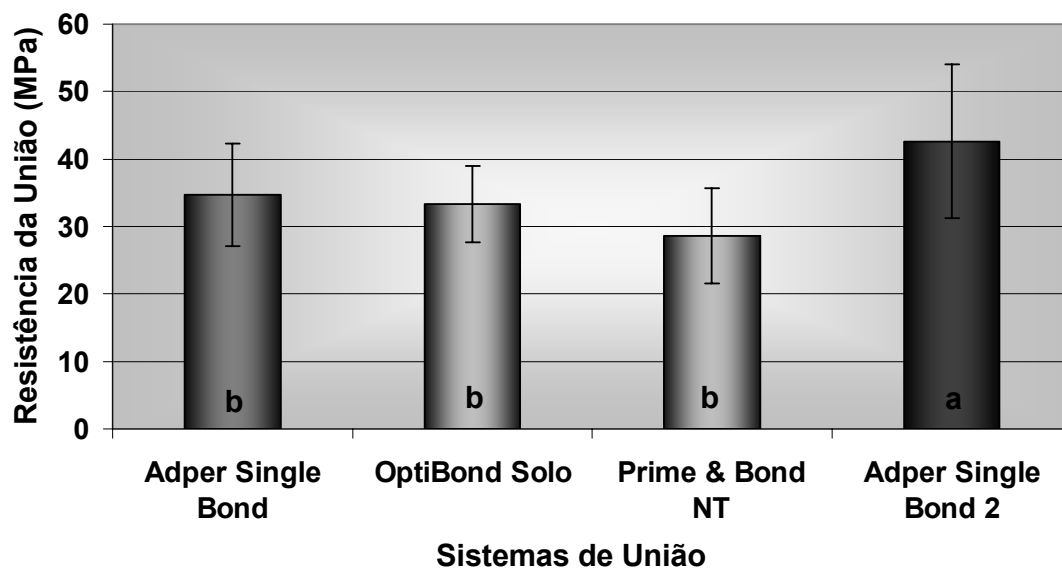
Os valores médios de resistência de união à microtração, incluindo o desvio padrão dos quatro sistemas de união empregados, estão representados na Tabela 2 e ilustrados da Figura 37. Diferenças estatísticas foram averiguadas com a aplicação da Análise de Variância (um fator) e pelo teste de Tukey, ao nível de significância de 5%. (Informações estatísticas complementares - Anexo 2)

Tabela 2

Valores de microtração (MPa)
(médias \pm desvio padrão)

Sistemas Adesivos	Adper Single Bond	OptiBond Solo	Prime & Bond NT	Adper Single Bond 2
Resistência de União	34,68 \pm 7,61 b	33,33 \pm 5,64 b	28,59 \pm 7,08 b	42,64 \pm 11,44 a

Letras distintas representam diferenças estatísticas verificadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).



Letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Figura 37 – Valores médios de resistência da união à microtração (MPa)

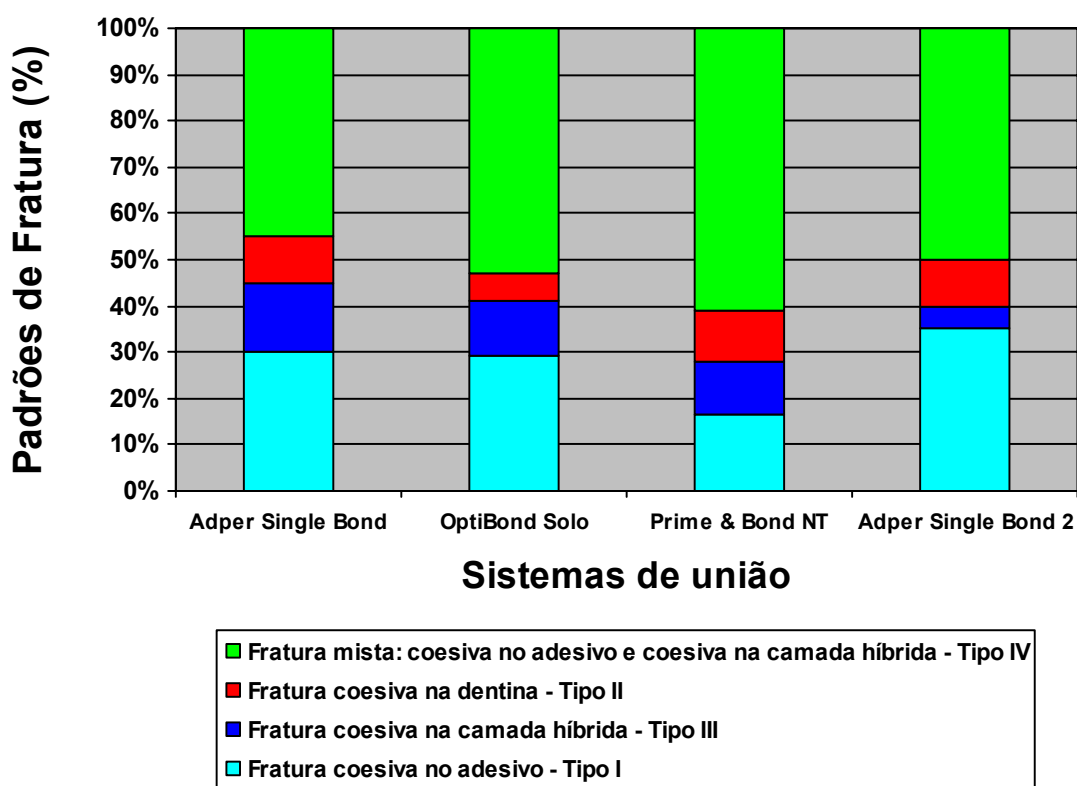
Os valores médios de resistência da união dos adesivos Adper Single Bond, OptiBond Solo e Prime Bond NT não apresentaram diferença estatística entre si. O adesivo Adper Single Bond 2 apresentou média de resistência da união significativamente superior aos demais adesivos ($P < 0,05$).

5.4.1. ANÁLISE DO PADRÃO DE FRATURA

A FIGURA 38 exibe uma ilustração gráfica da classificação e distribuição percentual dos padrões de fratura observados nos quatro sistemas de união avaliados. Houve predomínio do padrão de fratura tipo IV em todos os grupos, conforme mostram as figuras 39, 40, 41 e 42. O sistema de união Adper Single Bond 2 apresentou o menor percentual do padrão de fratura tipo III e a maior incidência do padrão de fratura tipo I. O padrão de fratura tipo II foi identificado na análise fractográfica dos quatro sistemas de união, apresentando valores percentuais próximos.

Figura 38

Ilustração gráfica da classificação e distribuição dos padrões de fratura (%).



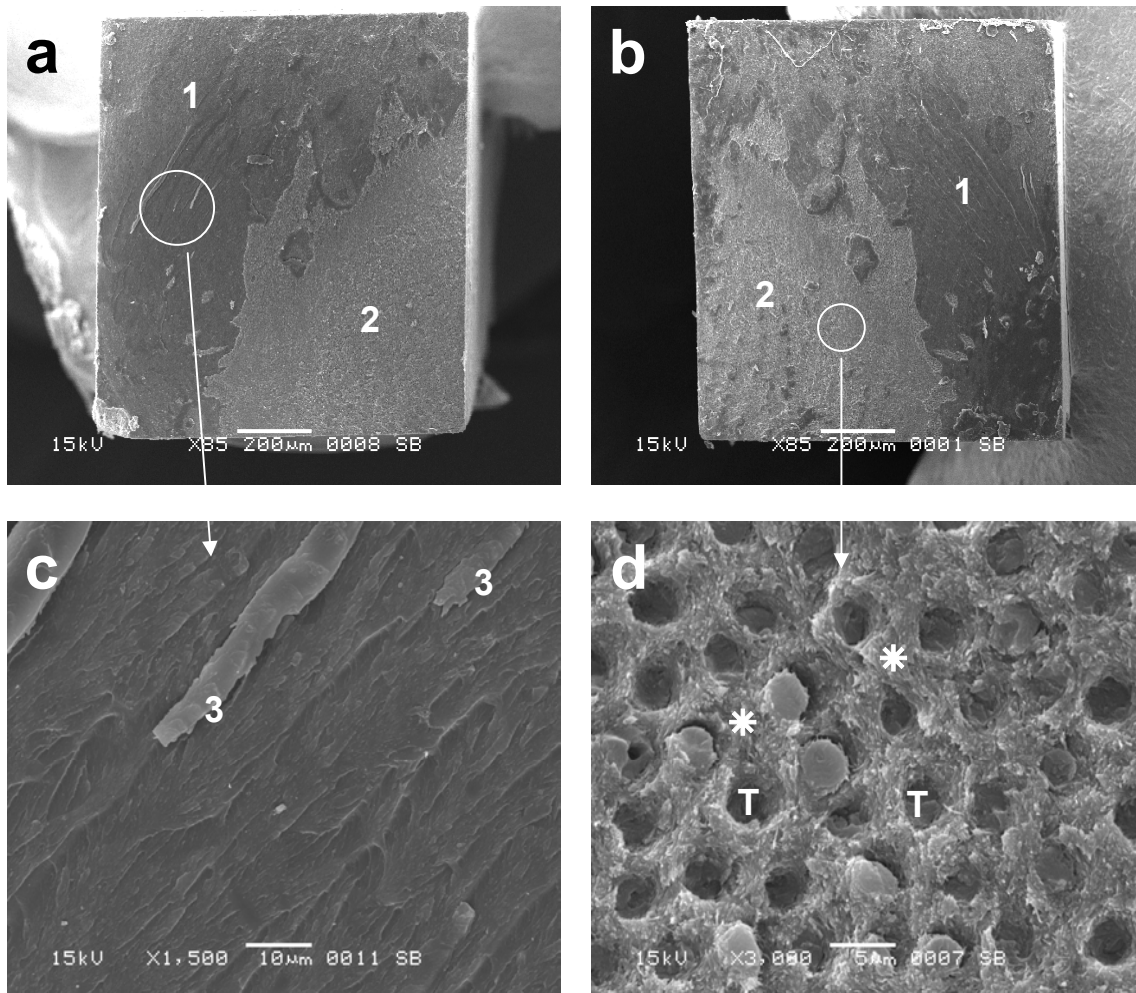


Figura 39 – Fotografia em MEV mostrando o padrão de fratura tipo IV obtido após o ensaio de microtração realizado em dentina tratada com o sistema de união Adper Single Bond. **a e b)** ambos os lados do espécime fraturado. **1** - adesivo; **2** – camada-híbrida. **c)** superfície do adesivo após fratura coesiva. **3** – estrias na superfície do adesivo. **d)** túbulos dentinários (**T**) e dentina intertubular (*****) infiltrados pelo adesivo em região de fratura coesiva na camada-híbrida.

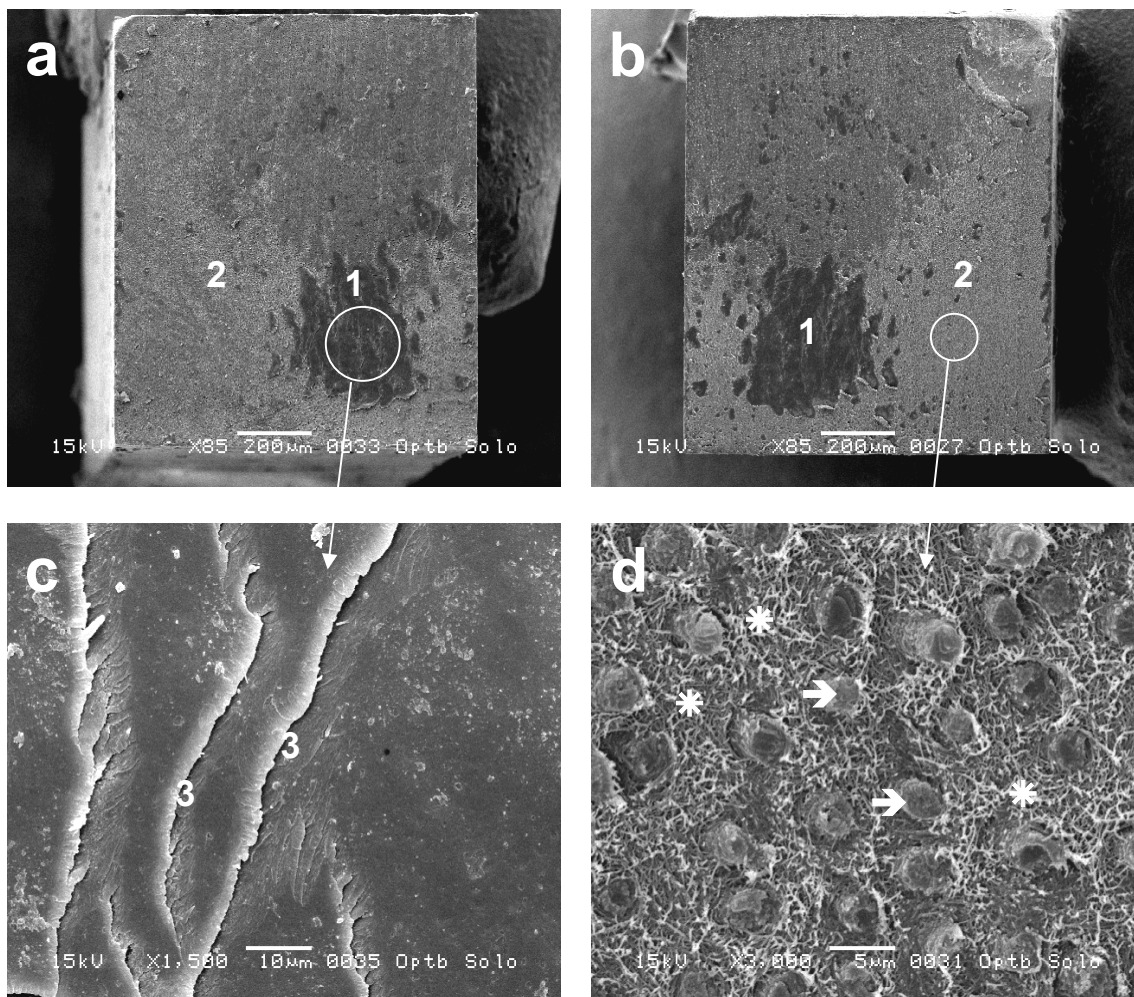


Figura 40 – Fotografia em MEV mostrando o padrão de fratura tipo IV obtido após o ensaio de microtração realizado em dentina tratada com o sistema de união OptiBond Solo. **a e b)** ambos os lados do espécime fraturado. **1** - adesivo; **2** – camada-híbrida. **c)** superfície do adesivo após fratura coesiva. **3** – estrias na superfície do adesivo. **d)** presença de fibrilas de colágeno expostas (*) na dentina intertubular e túbulos dentinários infiltrados pelo adesivo (→) em região de fratura coesiva na da camada-híbrida.

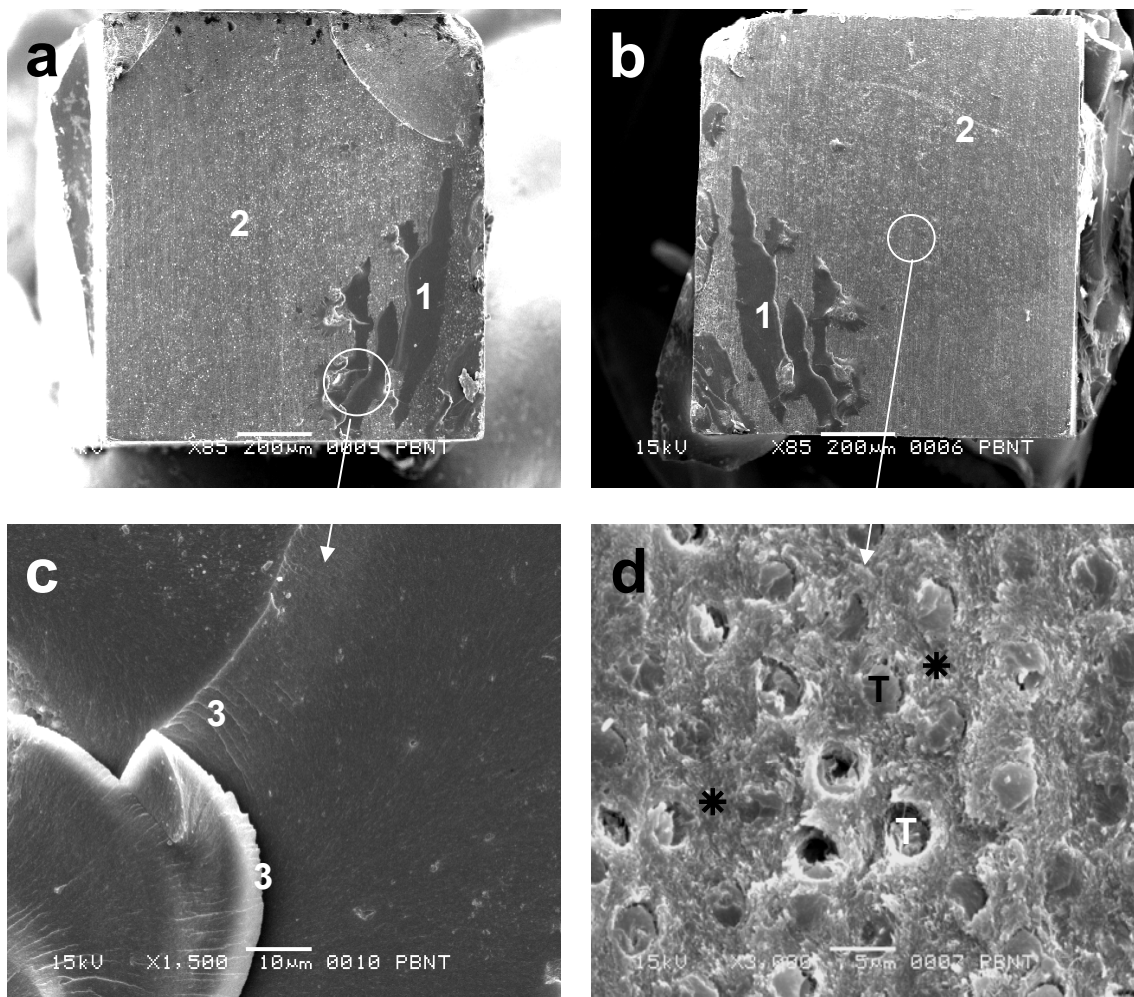


Figura 41 – Fotografia em MEV mostrando o padrão de fratura tipo IV obtido após o ensaio de microtração realizado em dentina tratada com o sistema de união Prime & Bond NT. **a e b)** ambos os lados do espécime fraturado. **1** - adesivo; **2** – camada-híbrida. **c)** superfície do adesivo após fratura coesiva. **3** – estrias na superfície do adesivo. **d)** região de fratura coesiva na camada-híbrida expondo túbulos dentinários (**T**) e dentina intertubular (*****) infiltrados pelo adesivo.

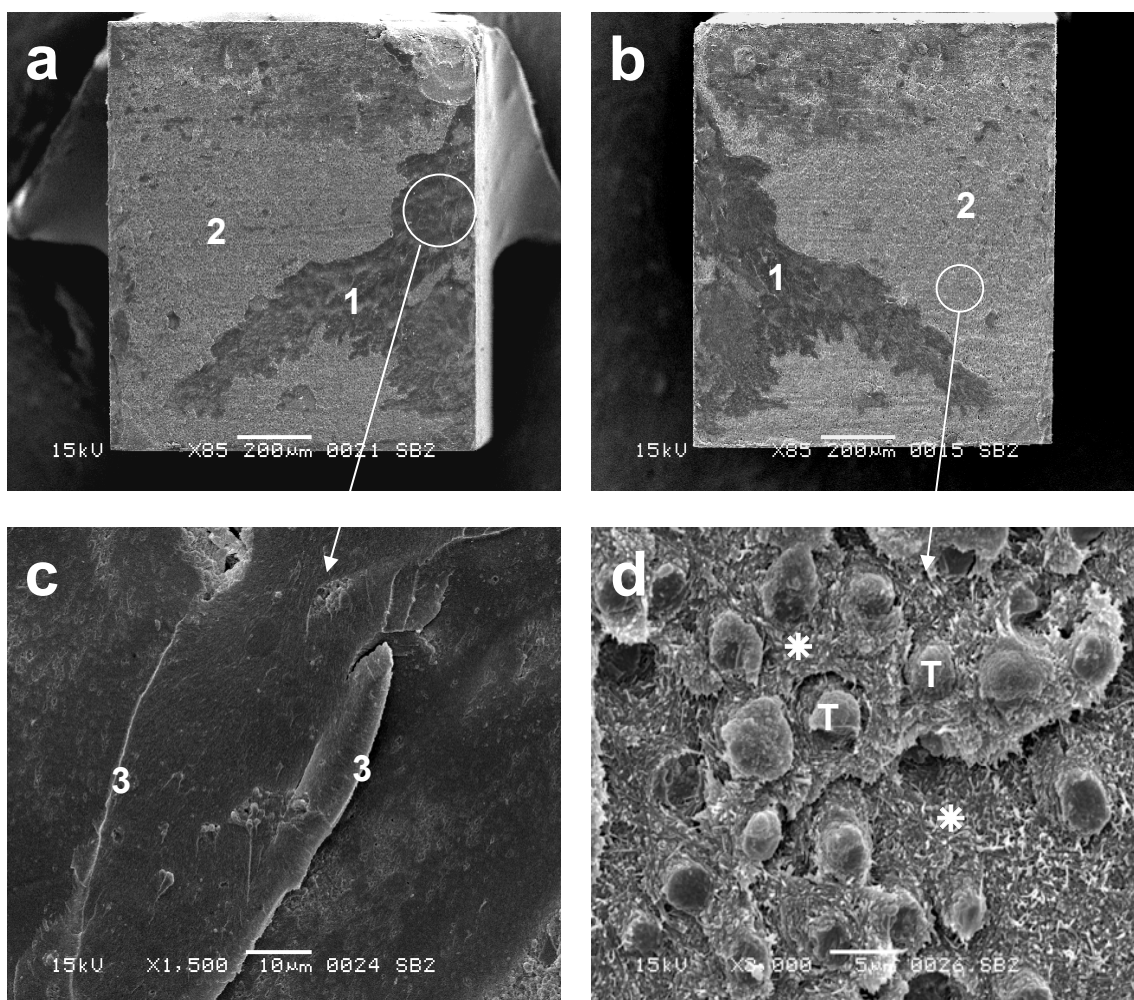


Figura 42 – Fotografia em MEV mostrando o padrão de fratura tipo IV obtido após o ensaio de microtração realizado em dentina tratada com o sistema de união Adper Single Bond 2. **a** e **b**) ambos os lados do espécime fraturado. **1** - adesivo; **2** – camada-híbrida. **c**) superfície do adesivo após fratura coesiva. **3** – estrias na superfície do adesivo. **d**) exposição dos túbulos dentinários (**T**) e dentina intertubular (*****) infiltrados pelo adesivo em região de fratura coesiva na camada-híbrida.

6-DISCUSSÃO

O tratamento do tecido dentinário, durante os procedimentos restauradores, é fundamental para a obtenção de uma união efetiva mediante a formação de retenções micro-mecânicas. Esta condição promove a retenção do material restaurador aos substratos dentais, preveni a infiltração marginal e proporciona longevidade à restauração (Ferrari 1997; Mair 1998; Burrow & Tyas 1999). Quanto a este preceito inicial, os quatro sistemas de união avaliados mostraram-se eficazes, uma vez que houve formação de camada híbrida (Figuras 21, 22, 23 e 24). Semelhantes resultados foram relatados, para esta categoria de sistemas de união convencionais de frasco único, em estudo comparativo entre adesivos realizado por Van MeerbeeK *et.al.* (2003), o que contribui para fundamentar a indicação clínica dos adesivos.

A análise dos resultados do ensaio de micro-tração mostrou que a resistência da união alcançada pelos adesivos OptiBond Solo, Prime & Bond NT e Adper Single Bond, não apresentou diferença estatística. Estes dados atestam que a presença de micropartículas na composição do OptiBond Solo e de nanopartículas no Prime & Bond NT, não determinaram superior resistência da união à dentina para estes materiais. Empregando semelhante metodologia, Braga *et.al.*; (2000) e Say *et.al.*; (2005) também obtiveram paridade de resultados entre adesivos com e sem carga. No entanto, o presente estudo mostrou que o adesivo Adper Single Bond 2, cuja única modificação em relação ao seu antecessor (Adper Single Bond) foi a incorporação de nanopartículas (informações do fabricante - 3M/ESPE), obteve resistência de união significativamente superior aos demais adesivos (Tabela 2, FIG.37) Por outro lado, similar influência das nanopartículas sobre a resistência da união não foi constatada por Nunes *et.al.*; (2001). Estes autores chegaram a resultados estatisticamente iguais entre o adesivo Prime & Bond NT e uma versão experimental sem a presença de nanopartículas. Destacaram ainda, que a incorporação de partículas micrométricas para compor uma modificação do adesivo Adper Single Bond, acarretou redução significativa da resistência de união, em comparação ao produto original. Diante destes dados

antagônicos, ficou evidente que a presença de partículas inorgânicas em adesivos pode exercer influência na resistência da união, mas em condições especiais. Além disso, o mecanismo que estabelece este poder é determinado, provavelmente, pelas características das partículas e forma de interação com o tecido dentinário.

Para melhor entender a significação das partículas inorgânicas neste processo, avaliou-se a presença de elementos químicos nas interfaces de união formadas pelos quatro adesivos estudados mediante espectrometria de energia dispersiva de raio-X (EDX) em Microscópio Eletrônico de Varredura. A análise identificou o elemento químico Silício, principal componente das partículas inorgânicas dos adesivos (Quadro 1), localizado na camada de adesivo e na porção inicial dos *tags* de resina, tanto no OptiBond Solo quanto no Prime & Bond NT (Figuras 26 e 27), o que assinala a presença de carga nestas regiões. De modo ainda mais expressivo, verificam-se sinais deste elemento na interface de união formada pelo Adper Single Bond 2, encontrados em toda a extensão dos *tags* de resina, adesivo e camada híbrida, mostrando uma interação especial com a dentina desmineralizada (Figura 28). Como era previsto, o Silício não foi revelado na interface de união formada pelo Adper Single Bond, uma vez que este adesivo não apresenta partículas inorgânicas em sua composição (Quadro 1, Figura 25). Ainda que em EDX não seja possível observar com nitidez as partículas inorgânicas, é relevante ressaltar que este exame permite mapeamento químico sem a interferência de artefatos de técnica, que poderiam comprometer os resultados.

A detecção de expressiva quantidade de Cálcio e Fósforo na camada híbrida formada pelos adesivos Adper Single Bond e Adper Single Bond 2 (Figuras 25, 28), e na embocadura dos túbulos dentinários preenchidos pelos adesivos OptiBond Solo e Prime & Bond NT (Figuras 26 e 27), é natural. Estes elementos químicos formam o principal componente inorgânico da dentina, a hidroxiapatita (Berkovitz *et.al.*; 2004). São identificados devido à permanência de porções da dentina não completamente desprovidas dos constituintes minerais, mesmo depois do condicionamento ácido. Além do Cálcio e do Fósforo, complexos

insolúveis de fosfato de cálcio podem, em teoria, permanecer no tecido após a remoção do agente condicionador (Anusavice 1998). Especificamente em relação aos adesivos OptiBond Solo e Prime & Bond NT, a presença de Fósforo deve-se somar à composição orgânica destes materiais. Os monômeros fosfatados Glicerol-dimetacrilato Dihidrogênio Fosfato (GPDM) e MonoFosfato de Dipentaeritritol Pentacrilato (PENTA) fazem parte da formulação do OptiBond Solo e Prime & Bond NT, respectivamente. Os elementos químicos Sódio, Oxigênio e Cloro, cuja presença foi revelada em algumas das análises, podem ser remanescentes da solução de hipoclorito de sódio (NaOCl), utilizada para remover a matriz orgânica das amostras durante a fase final do processamento. O Carbono, empregado para revestir as amostras ao final do preparo, esteve presente na análise de todos os espécimes estudados. Seu posicionamento, na exibição gráfica da composição química dos espécimes, é localizado sempre na porção inicial do eixo X. Deste modo, não se sobrepõe aos outros elementos químicos, o que impediria uma apreciação criteriosa (Figuras 25, 26, 27 e 28). Nesta avaliação, não deve ser desconsiderada a presença de outros elementos químicos encontrados nos adesivos e na dentina, que não foram apontados, provavelmente, por não alcançarem concentrações detectáveis neste processo.

Em complemento ao estudo da interface de união, foi realizada a caracterização micro-morfológica, em Microscopia Eletrônica de Transmissão, utilizando espécimes não corados. O propósito da aplicação desta técnica de processamento de amostras foi evitar a formação de estruturas eletrodensas não específicas, localizadas na periferia das fibrilas de colágeno, como ocorre em espécimes corados (Tay *et.al.*; 1999). Estes componentes eletrodensos representam remanescentes de proteoglicanas e proteínas não colágenas, que permanecem retidos na matriz orgânica após o condicionamento ácido do tecido (Glincher *et.al.*; 1986, Goldberg & Takagi 1993), e poderiam ser facilmente confundidos com partículas de carga dos adesivos. Sem a formação desse artefato de técnica, conhecido como “adjunto do colágeno” (Linde *et.al.*; 1983), a caracterização micromorfológica ficou facilitada e, a nítida observação das partículas inorgânicas, possibilitou confirmar a localização destas estruturas, já

indicadas pelo mapeamento químico em Microscopia Eletrônica de Varredura. Com esta associação de técnicas, pode-se afirmar com segurança, que as estruturas distribuídas na camada de adesivo e no interior de alguns túbulos dentinários do OptiBond Solo e do Prime & Bond NT (Figuras 31, 32, 33 e 34), são partículas inorgânicas provenientes dos adesivos. Também, ficou caracterizada a presença de nanopartículas nos tags de resina, na camada de adesivo e, inclusive, em toda a extensão da camada híbrida formada pelo adesivo Adper Single Bond 2 (Figuras 35 e 36).

A infiltração de nanopartículas entre as fibrilas de colágeno pode ser o fator principal e determinante dos maiores valores de resistência da união, alcançados com adesivo Adper Single Bond 2. Conforme este entendimento, as partículas inorgânicas atuariam como elemento de reforço da dentina severamente enfraquecida pela ação do condicionador ácido. A presença das partículas na camada híbrida pode ser comparada aos cristais de hidroxiapatita, preservados na interface de união de adesivos auto-condicionantes (Watanabe *et.al.*; 1990; Watanabe 1992). Esta condição estrutural da camada híbrida resultaria, portanto, em maior resistência mecânica da união. Isto, provavelmente, determinou a menor incidência de fraturas na camada híbrida (Tipo III) do Adper Single Bond 2, constatada na análise dos padrões de fratura, após o ensaio de micro-tração. Além disso, observou-se que a maior porcentagem de fratura na camada de adesivo (Tipo I) também ocorreu com o Adper Single Bond 2 (Figura 38), demonstrando não haver aumento da resistência coesiva do material, o que reafirma a condição de reforço da camada híbrida mediante a infiltração de nanopartículas entre as fibrilas de colágeno.

Apesar das variações na composição dos adesivos avaliados, houve predominância do padrão de fratura tipo IV, em todos eles (Figura 38). A agressividade do ácido fosfórico 30-40% (pH-0,6), utilizado como agente condicionador nos sistemas de união convencionais, determina um padrão complexo de dissolução da dentina, não infiltrado totalmente pelos monômeros resinosos dos adesivos (Van Meerbeek *et.al.*; 1993a, Sano *et.al.*; 1995). Esta disposição é especialmente observada na base da camada híbrida e,

provavelmente, representa o elo mais fraco da união entre a dentina e o material restaurador. Desta forma, quando a interface de união é submetida à tensão de tração, a fratura tende a se originar na região desprotegida da dentina (desmineralizada e não preenchida pelo adesivo), propagando-se paralelamente à união, no interior do adesivo (Figuras 39, 40, 41 e 42).

Conforme ficou demonstrado na análise dos resultados, a infiltração de partículas inorgânicas entre as fibrilas de colágeno é essencial para o reforço da união. Para que este tipo de interação ocorra, é necessário considerar quatro fatores: Primeiro - as partículas devem ser suficientemente pequenas (com dimensões nanométricas) para penetrarem nos espaços interfibrilares, que apresentam cerca de 20nm de diâmetro (Watanabe *et.al.*; 1994, Perdigão *et.al.*; 1996, Van Meerbeek *et.al.*; 1998). Segundo - as nanopartículas necessitam apresentar estabilidade físico/química para evitar sua agregação/aglomeração durante a armazenagem e/ou aplicação do sistema de união. Caso contrário, haveria a possibilidade de formação de estruturas micrométricas denominadas *clusters*, cujas dimensões as impossibilitam de penetrar na dentina desmineralizada (Gonçalves & Chen 1996). Terceiro - devido às nanopartículas e os monômeros resinosos apresentarem pesos moleculares consideravelmente distintos, a conseqüente diferença na taxa de difusão poderia impedir a completa penetração das partículas entre as fibrilas de colágeno, mesmo com os espaços entre elas mantidos pela correta aplicação da técnica úmida de hibridização (Eick *et.al.*; 1995). Quarto – deve ainda ser considerada a presença de um hidrogel de substâncias residuais composto por proteoglicanas e proteínas não-colágenas, localizado nos espaços interfibrilares, que pode impedir fisicamente a infiltração de nanopartículas (Linde 1995).

Diante de tais premissas, cabem algumas considerações a respeito dos sistemas de união analisados neste estudo. Quanto à porção inorgânica dos adesivos, o OptiBond Solo apresenta partículas compostas de Boro-silicato de Bário-Alumínio, Sílica Pirolítica e Hexaflúor-Silicato di-Sódio, com dimensões próximas a 0,4µm. Isto as impossibilita de penetrar nos espaços de dimensões nanométricas presentes entre as fibrilas de colágeno para, assim, comporem a

camada híbrida. Deste modo, as partículas assumem importância irrelevante em termos de resistência de união, estabelecendo concordância com os resultados de Braga *et.al.*; (2000). Esta categoria de sistemas de união, apesar de representar uma simplificação técnica operacional, necessita de formulação química complexa para reunir monômeros hidrófilos e hidrófobos em um único frasco (Carvalho *et.al.*; 2004a). Por isso, características referentes ao equilíbrio químico do adesivo, como o tipo de solvente (água, álcool ou acetona), e o grau de umidade do substrato, acabam adquirindo maior relevância na determinação da efetividade de união (Braga *et.al.*; 2000).

Em relação às nanopartículas dos adesivos Prime & Bond NT e Adper Single Bond 2, elas são constituídas de sílica sintética e produzidas por processo químico denominado sol-gel (Michael & Fench 1993). Suas dimensões podem variar de 7 a 40nm no Prime & Bond NT (Tay *et.al.*; 1999) e 5nm, em média, (informações do fabricante – 3M ESPE) no Adper Single Bond 2. Existe uma tendência natural das nanopartículas se agregarem/aglomerarem formado *clusters*, como resultado da atuação de forças de van der Waals, predominantes em nanoescala. Neste universo de grandeza, as forças de atração eletrostáticas chegam a ser cerca de 10^{36} vezes mais intensas que a força gravitacional (Rocco ; 1995, Rocco *et.al.*; 1999, Rocco & Bainbridge 2001, Fishbine 2002, Seeman 2003). Para alcançar a estabilidade das partículas, conforme a teoria de Derjaguim-Landau-Vermey-Overbeek (DLVO), são aplicados modificadores de superfície, o que resulta em forças etrotrostáticas de repulsão entre elas, proporcionando equilíbrio químico (Dickinson 1992; Horisberger 1998). No entanto, a tendência das nanopartículas se agregarem/aglomerarem pode ser intensificada, em um segundo momento, como resultado do próprio tratamento de superfície. Isto ocorre devido a formação de grupamentos silanol na superfície das partículas modificadas, o que implica na formação de pontes de hidrogênio entre unidades adjacentes (Schmidt *et.al.*; 1996), impedindo a infiltração entre as fibrilas de colágeno. Uma outra situação, também adversa à penetração das nanopartículas, é a probabilidade de formação de pontes de hidrogênio entre nanopartículas e aminoácidos, presentes na matriz de colágeno da dentina

desmineralizada. Este entendimento se prende à observação de que similar interação físico/química ocorre entre partículas de sílica, utilizadas como espessante em condicionadores ácidos, e proteínas da matriz orgânica da dentina. Assim constituídas, permanecem retidas na superfície do tecido, mesmo após abundante lavagem com água (Figura 36), como descreveram Van Meerbeek *et.al.*; (1993) e Perdigão *et.al.*; (1996).

Para superar estes obstáculos, os fabricantes de materiais odontológicos, fundamentados em conhecimentos da nanociência, passaram a tratar as nanopartículas com um grupo de moléculas denominado silano. Com este artifício, aproximadamente 70% dos grupamentos silanol, formados na superfície das partículas modificadas superficialmente, foram substituídos por moléculas conhecidas como siloxanos. Em consequência, adquiriram caráter hidrófobo, tornando-se mais facilmente dispersáveis em solução coloidal (Michael & Fench 1993). Além da estabilização físico/química, esta modificação da superfície permite a união das nanopartículas com os monômeros resinosos do adesivo, formando “nanômeros”, que são estruturas constituídas por nanopartículas e componentes orgânicos (Schmidt *et.al.*; 1996). O silano, sendo uma molécula bifuncional, forma ligação covalente com a superfície das partículas em uma de suas extremidades, enquanto a outra fica disponível para a copolimerização com os monômeros resinosos (Anusavice 1998).

Mesmo após o tratamento com o silano, as nanopartículas do adesivo Prime & Bond NT não conseguem manter a estabilidade físico/química durante a aplicação do material, formando *clusters* (Figuras 33 e 34). Isto pode ser atribuído, em parte, à incompleta estabilização química das partículas tratadas com silano, permitindo, ainda, união com o hidrogênio residual. Adicionalmente, soma-se a desestabilização da carga eletrostática das nanopartículas, devido a alterações no pH e forças iônicas do adesivo, advindas com a volatilização de solvente (Tay *et.al.*; 1999). Todas estas variações podem ocorrer durante a aplicação do adesivo, contribuindo para que as nanopartículas ultrapassem o raio crítico de repulsão de Stern (Dickinson 1992; Schmidt *et.al.*; 1996). Em consequência, ocorre redução no poder de ação do silano e as nanopartículas se aproximam,

aglomerando-se. Assim, as nanopartículas do Prime & Bond NT passam a desempenhar função semelhante às partículas micrométricas presentes em outros adesivos como, por exemplo, o OptiBond Solo. Nesta conjuntura, as nanopartículas compõem uma matriz polimérica reforçada, que atua como uma zona de absorção de tensões ou constitui uma “parede cavitária elástica”, em função de seu módulo de elasticidade intermediário entre a camada híbrida e o compósito restaurador (Kemp-Scholte & Davidson 1990). Apesar deste atributo, o adesivo não alcançou maiores níveis de resistência de união.

Diferentemente das anteriores, as nanopartículas do Adper Single Bond 2 foram as únicas a infiltrarem entre as fibrilas de colágeno na formação da camada híbrida (Figuras 35 e 36). A qualidade especial adquirida por estas nanopartículas, permitiu que permanecessem uniformemente dispersas no adesivo durante a sua aplicação. A estabilidade físico/química destas estruturas foi adquirida com o aperfeiçoamento na aplicação do silano em suas superfícies. O processo de revestimento inicia-se com a hidrólise e condensação do silano, resultando em uma dispersão coloidal, que é entremeada pelas nanopartículas. Em sequência, este conjunto é polimerizado pela luz visível logo após a aplicação do adesivo. Desta forma, os grupamentos metacrilatos, localizados em uma das extremidades da molécula de silano, formam ligações covalentes com os átomos de Silício das nanopartículas, revestindo-as de modo a compor sua cobertura. A modificação técnica que propiciou melhores resultados foi determinada, provavelmente, por condições especiais na reação de condensação do Silano, alcançada com a adição de reagentes capazes de aumentar a reatividade das moléculas. Assim tratadas, reagiriam de forma mais intensa com a superfície da partícula, proporcionando um “isolamento químico” mais eficiente (Moszner & Klapdohr 2004).

Outro fator relevante, que contribui para evitar a agregação/aglomeração das nanopartículas, é o tipo de solvente presente no sistema de união. De modo geral, adesivos que apresentam solvente a base de água/etanol, como o Adper Single Bond, Optibond Solo e o Adper Single Bond 2, são menos críticos na manutenção da estabilidade química, em comparação aos que empregam a

acetona, como o Prime & Bond NT. Neste caso, a incorporação de monômeros resinosos na acetona é extremamente complexa, resultando em adesivos constituídos por aproximadamente 80% (volume) de solvente e, apenas 20% (volume) de moléculas monoméricas (Reis *et.al.*; 2003). Com a volatilização da acetona, esta relação proporcional sofre forte alteração, o que pode acarretar variações no pH e entre as ligações químicas das moléculas, desestabilizando as cargas eletrostáticas na superfície das nanopartículas (Dickinson 1992; Schmidt *et.al.*; 1996). Para os adesivos que apresentam água/etanol como solvente, a adição de monômeros resinosos é facilitada, permitindo incorporar aproximadamente 80% (volume) de moléculas monoméricas (Reis *et.al.*; 2003). Após a volatilização do solvente (20% em volume), a alteração das proporções entre os constituintes do adesivo, não é intensa o suficiente para causar desestabilização química. Com esta etapa transposta, somada ao tratamento especial dado às superfícies das nanopartículas, foi possível chegar ao equilíbrio químico necessário para se evitar agregação/aglomeração da porção inorgânica.

A provável dificuldade da infiltração uniforme das nanopartículas entre as fibrilas de colágeno, em função de sua menor taxa de difusão em relação aos monômeros resinosos (Eick *et.al.*; 1995), não foi constatada com o Adper Single Bond 2. Segundo Tay *et.al.*; (1999), a diferença na taxa de difusão resultaria em predominante infiltração monomérica, comprometendo a penetração das nanopartículas entre os tortuosos caminhos formados pelos canais interfibrilares. Contudo, a estabilidade química alcançada pelo Adper Single Bond 2 preservou a ligação covalente, formada entre as nanopartículas e os monômeros resinosos, por meio do silano. Esta união química primária é, provavelmente, o fator principal e responsável por conduzir as nanopartículas para o interior da camada híbrida, que são “transportadas” juntamente com a porção orgânica do adesivo.

Por último, resta às nanopartículas transporem barreiras biofísicas, que se formam no trajeto entre as fibrilas de colágeno para, assim, alcançarem toda a extensão da camada híbrida. A matriz orgânica da dentina desmineralizada, como substrato para a adesão, é considerada, de modo geral, como um emaranhado de fibrilas de colágeno sustentadas pela água. No interior desta estrutura, também

estão presentes substâncias residuais, como proteoglicanas e outras proteínas não-colágenas (Lindén *et.al.*; 1995). Observar-se que, após a desmineralização da dentina, apenas uma parte do complexo de proteínas não colágenas é solubilizado e extraído do tecido pela lavagem com água. A outra porção se agrupa para formar uma densa população de grânulos, com aproximadamente 1,5 a 2nm de diâmetro, ao longo das fibrilas de colágeno (Goldberg & Septier 1986). Apesar destes obstáculos, as nanopartículas contidas no adesivo Adper Single Bond 2, permanecendo dispersas, conseguem progredir frente aos espaços remanescentes, que, ainda, apresentam dimensões suficientes para permitir o deslocamento destas estruturas. Além desta condição física, a manutenção da estabilidade na superfície das nanopartículas foi fundamental por impedir a formação de ligações químicas com as proteoglicanas remanescentes, altamente carregadas por poliânions. Por estas razões, as nanopartículas contidas no adesivo Adper Single Bond 2 conseguiram infiltrar por toda a extensão da camada híbrida.

A presença de nanopartículas na camada híbrida viabiliza a concepção de reforço à dentina fragilizada pelo condicionamento ácido. Esta inovação é resultado do preparo de nanomateriais, pesquisados e desenvolvidos nos últimos anos (Whitesides & Christopher 2001), que aponta para uma nova tendência dos sistemas de união de frasco único. O desenvolvimento da ciência em nanoescala encontra-se em uma fase pré-competitiva e, espera-se, que muitas aplicações surjam nos próximos anos.

7-CONCLUSÃO

Considerando os resultados deste estudo, pode-se concluir que:

1. Na análise morfológica, os quatro sistemas de união foram eficientes na formação da camada híbrida.

2. As nanopartículas incorporadas no adesivo Adper Single Bond 2 apresentaram-se distribuídas de modo uniforme em toda a extensão da camada híbrida. Por outro lado, as partículas inorgânicas presentes no Optibond Solo e no Prime & Bond NT ficaram distribuídas na superfície da camada híbrida e concentradas na embocadura dos túbulos dentinários.

3. Houve influência da nanopartícula presente no interior da camada híbrida formada pelo adesivo Adper Single Bond 2 sobre a propriedade mecânica de resistência da união à dentina.

4. O adesivo Adper Single Bond 2 apresentou valores de resistência da união estatisticamente diferentes e superiores aos demais adesivos.

5. Houve predominância do padrão de fratura tipo IV (fratura mista: coesiva no adesivo e na camada híbrida) para todos os adesivos. O adesivo Adper Single Bond 2 apresentou o menor percentual do padrão de fratura tipo III (fratura coesiva na camada híbrida).

REFERÊNCIAS*

Anusavice, K.J. **Phillips Materiais Dentários**. 10ed., 1998.

Agee KL, Pashley EL, Itthagarun A, Sano H, Tay FR, Pashley DH. Submicron hiati in acid-etched dentin are artifacts of desiccation. **Dent Mater**. 2003; 19(1): 60-8.

Applebaum E. Lymph channels in dentine and enamel stained by amalgam. **J Dent Res**. 1929; 9: 487-502.

Avery JK. **Fundamentos de Histologia e Embriologia Bucal – Uma Abordagem Clínica**. 2ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001. cap.8, 86-97p.

Aviram A, Ratner M (eds). Molecular Electronics: Science and Technology. **Annals of the New York Academy of Sciences**, vol.852. New York: New York Academy of Sciences, 1998.

Bayne SC, Thompson JY, Swift EJ Jr, Stamatiades P, Wilkerson M. A characterization of first-generation flowable composites. **J Am Dent Assoc**. 1998; 129(5): 567-77.

Bhaskar SN. **Histologia e Embriologia Oral de Orban**. 10.ed. São Paulo : Artes Médicas; 1989. cap.4, 112-46 p.

Behle C. Flowable composites: properties and applications. **Pract Periodontics Aesthet Dent**. 1998; 10(3): 347, 350-1.

*De acordo com a norma UNICAMP/FOP, baseado no modelo Vancouver. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o Medline.

Berkovitz BKB, Holland GR, Moxham BJ. **Anatomia, Embriologia e Histologia Bucal**. 3.ed. São Paulo : Artes Médicas; 2004. cap.9, 125-148p.

Braga RR, Cesar PF, Gonzaga CC. Tensile bond strength of filled and unfilled adhesives to dentin. **Am J Dent**. 2000; 13(2): 73-6.

Brännström M. Communication between the oral cavity and the dental pulp associated with restorative treatment. **Oper Dent**. 1984; 9(2): 57-68.

Buonocore MG, Wileman W, Brudevold F. A report on a resin composition capable of bonding to human dentin surfaces. **J Dent Res**. 1956; 35: 846-51.

Buonocore MG. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. **J Dent Res**. 1955; 34(6):849-53.

Burrow MF, Tagami J, Hosoda H. The long term durability of bond strengths to dentin. **Bull Tokyo Med Dent Univ**. 1993; 40(4): 173-91.

Butler WT. Dentin extracellular matrix and dentinogenesis. **Oper Dent**. 1992; Suppl 5:18-23. (Review).

Butler WT. Dentin matrix proteins. **Eur J Oral Sci**. 1998; 106 Suppl 1:204-10. (Review).

Butler WT, Ritchie HH, Bronckers AL. Extracellular matrix proteins of dentine. **Ciba Found Symp**. 1997;205:107-15; discussion 115-7. (Review).

Can Say E, Nakajima M, Senawongse P, Soyman M, Ozer F, Ogata M, Tagami J. Microtensile bond strength of a filled vs unfilled adhesive to dentin using self-etch and total-etch technique. **J Dent**. 2006; 34(4): 283-91.

Carda C, Peydró A. Ultrastructural patterns of human dentinal tubules, odontoblasts processes and nerve fibres. **Tissue Cell**. 2006; 38(2): 141-50.

Carrilho MR, Carvalho RM, Tay FR, Pashley DH. Effects of storage media on mechanical properties of adhesive systems. **Am J Dent**. 2004; 17(2): 104-8.

Carrilho MR, Tay FR, Pashley DH, Tjäderhane L, Carvalho RM. Mechanical stability of resin-dentin bond components. **Dent Mater**. 2005; 21(3): 232-41.

Carvalho RM, Pegoraro TA, Tay FR, Pegoraro LF, Silva NR, Pashley DH. Adhesive permeability affects coupling of resin cements that utilise self-etching primers to dentine. **J Dent**. 2004a; 32(1): 55-65.

Carvalho RM, Tay FR, Giannini M, Pashley DH. Effects of pre- and post-bonding hydration on bond strength to dentin. **J Adhes Dent**. 2004b; 6(1): 13-7.

Chandy MJ, Adhikaram C, Thomas PG, Samuel KT, Chackalakal S.M. Modern approach to chemistry. 4ed. **TASSC Publications: Thiruvananthapuram**, 1997.

Choi KK, Condon JR, Ferracane JL. The effects of adhesive thickness on polymerization contraction stress of composite. **J Dent Res**. 2000; 79(3):812-7.

CMDMC-LIEC/UNESP-UFSCAR. **Nanotecnologia: o futuro**. [CD-ROM]. 2006.

Craig RG, Ward ML. **Restorative Dental Materials**, 10th ed. Mosby: St.Louis 1997:30-55.

Cruchon-Dupeyrat-S., Porthun-S., Liu G. -Y. Nanofabrication using computer-assisted design and automated vector-scanning probe lithography. **Applied Surface Science**, n.175-176, 2001, 636-42p.

Davidson CL, de Gee AJ. Relaxation of polymerization contraction stresses by flow in dental composites. **J Dent Res.** 1984; 63(12): 1396-9.

da cunha Mello FS, Feilzer AJ, de Gee AJ, Davidson CL. Sealing ability of eight resin bonding systems in a Class II restoration after mechanical fatiguing. **Dent Mater.** 1997; 13(6): 372-6

De Goes MF. Materiais e técnicas restauradoras. Como escolher e aplicar os materiais dentários. In: Cardoso RJA, Gonçalves EAN. **Dentística Laser.** São Paulo: Artes Médicas; 2001. v1, cap.6, p.115-31.

De Goes MF, Montes MAJR. Evaluation of silver methenamine method for nanoleakage. **J Dent.** 2004; 32(5): 391-8.

Deliperi S, Bardwell DN, Papathanasiou A, Perry R. Microleakage of resin-based liner materials and condensable composites using filled and unfilled adhesives. **Am J Dent.** 2003; 16(5): 351-5.

Denehy GE. A direct approach to restore anterior teeth. **Am J Dent.** 2000; 13(Spec No): 55D-59D.

Duran N, Mattoso LHC; Morais PC. **Nanotecnologia: introdução, preparação e caracterização de nanomateriais e exemplos de aplicação.** 1ed. São Paulo: Artliber, 2006.

Eigler D. From the bottom up: building things with atoms. In. G. Timp (Ed.), **Nanotechnology.** Springer-Verlag, New York, 1999. Cap 11, 425-70.

Endo T, Miyamoto K, Takahashi S, Abe S, Kudou Y, Okuda R. Bond effect of various bonding systems to bovine dentin and enamel. Durability of tensile bond strength to bovine dentin and enamel for three years. ***Proceedings of the First International Congress on Adhesive Dentistry***. 2002. Tokyo, Japan. J. Tagami ed. Abstract # P-120: 421.

Eric Drexler K. Engines of Creation: ***The Coming Era of Nanotechnology***. Fourth Estate, 1990.

Eric Drexler K. Peterson C, Pergamit G. ***Unbounding the Future: the Nanotechnology Revolution***. William Morrow and Company, Inc., New York, 1991.

Erickson RL. Mechanism and clinical implications of bond formation for two dentin bonding agents. ***Am J Dent***. 1989; 2 Spec No: 117-23.

Fanning DE, Wakefield CW, Robbins JW, Bagley AL. Effect of a filled adhesive on bond strength in three dentinal bonding systems. ***Gen Dent***. 1995; 43(3): 256-62. (Review).

Feilzer AJ, De Gee AJ, Davidson CL. Quantitative determination of stress reduction by flow in composite restorations. ***Dent Mater***. 1990; 6(3): 167-71.

Feilzer AJ, De Gee AJ, Davidson CL. Setting stress in composite resin in relation to configuration of the restoration. ***J Dent Res***. 1987; 66(11): 1636-9.

Feynman RP. There's plenty of room at the bottom. 1959. [acesso Maio/2006]. Disponível em [http:// www.zyvex.com/nanotech/feynman.html](http://www.zyvex.com/nanotech/feynman.html)

Fishbibe G. ***The Investor's Guide to Nanotechnology and Micromachines***. 1ed. John Wiley & Sons, Inc.: New York, 2002.

Fortin D, Swift EJ Jr, Denehy GE, Reinhardt JW. Bond strength and microleakage of current dentin adhesives. **Dent Mater.** 1994; 10(4): 253-8.

Fortin D, Vargas MA. The spectrum of composites: new techniques and materials. **J Am Dent Assoc.** 2000; 131 Suppl:26S-30S. (Review).

Fosse G, Saele PK, Eide R. Numerical density and distributional pattern of dentin tubules. **Acta Odontol Scand.** 1992 ; 50(4): 201-10.

Frey O. Creating a reliable bond. An all-in-one system. **Am J Dent.** 2000; 13(Spec No): 85D-87D.

Funke W. Toward a unified view of the mechanism responsible for paint defect by metallic corrosion. **Ind Eng Chem Prod Res Dev.** 1984; 24: 343-347.

Fusayama T, Nakamura M, Kurosaki N, Iwaku M. Non-pressure adhesion of a new adhesive restorative resin. **J Dent Res.** 1979; 58(4): 1364-70.

Fusayama T. Concepts in operative dentistry. ToKyo: **Quintessence.** 1980: 61-156.

Galembeck F. Polímeros e nanotecnologia. **Polímeros: Ciência e Tecnologia.** 2003; 13(1).

Garberoglio R, Brännström M. Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules. **Arch Oral Biol.** 1976; 21(6): 355-62.

Giulio GD. Novos Materiais e Suas Múltiplas Aplicações. **Revista do Instituto Uniemp.** 2007; Ano 3, Número 3, 40-47p.

Goracci G, Mori G, Baldi M. Terminal end of the human odontoblast process: a study using SEM and confocal microscopy. **Clin Oral Investig.** 1999; 3(3): 126-32.

Goracci G, Mori G, Casa de' Martinis L, Bazzucchi M. An ultrastructural analysis of dentin treated with chemical agents. **Minerva Stomatol.** 1993; 42(7-8): 313-25.

Goracci G, Mori G. Micromorphological aspects of dentin. **Minerva Stomatol.** 1995; 44(9): 377-87. (Review).

Goracci G, Mori G. Scanning electron microscopic evaluation of resin-dentin and calcium hydroxide-dentin interface with resin composite restorations. **Quintessence Int.** 1996; 27(2): 129-35.

Gunji T. Morphological research on the sensitivity of dentin. **Arch Histol Jpn.** 1982; 45(1): 45-67.

Gwinnett AJ, Kanca J 3rd. Micromorphological relationship between resin and dentin in vivo and in vitro. **Am J Dent.** 1992; 5(1): 19-23.

Hagger O. British patent 6872299, 1952.

Hagger O. Swiss patent 278946, 1951.

Hawking SW. **Uma breve história do tempo: do big bang aos buracos negros.** 30ed. Rocco: Rio de Janeiro, 1988.

Holland GR. Morphological features of dentine and pulp related to dentine sensitivity. **Arch Oral Biol.** 1994; 39 Suppl: 3S-11S. (Review).

Jacobsen T, Söderholm KJ. Some effects of water on dentin bonding. **Dent Mater.** 1995; 11(2): 132-6.

Jendresen MD, Glants PO, Baier RE, Eick JD. Microtopography and clinical adhesiveness of an acid etched tooth surface. An in vivo study. **Acta Odontol Scand.** 1981; 39:47-53.

Kanca J 3rd. A method for bonding to tooth structure using phosphoric acid as a dentin-enamel conditioner. **Quintessence Int.** 1991; 22(4): 285-90.

Kemp-Scholte CM, Davidson CL. Marginal integrity related to bond strength and strain capacity of composite resin restorative systems. **J Prosthet Dent.** 1990; 64(6): 658-64.

Kerns DG, Scheidt MJ, Pashley DH, Horner JA, Strong SL, Van Dyke TE. Dentinal tubule occlusion and root hypersensitivity. **J Periodontol.** 1991; 62(7): 421-8.

Kramer IRH, Mclean JW. Alterations in the staining reactions of dentine resulting from a constituent of a new self-polymerizing resin. **Br Dent J.** 1952; 92: 150-3.

Kugel G, Ferrari M. The science of bonding: from first to sixth generation. **J Am Dent Assoc.** 2000; 131 Suppl: 20S-25S.

Labella R, Lambrechts P, Van Meerbeek B, Vanherle G. Polymerization shrinkage and elasticity of flowable composites and filled adhesives. **Dent Mater.** 1999; 15(2): 128-37.

La Fleche RG, Frank RM, Steuer P. The extent of the human odontoblast process as determined by transmission electron microscopy: the hypothesis of a retractable suspensor system. **J Biol Buccale.** 1985; 13(4): 293-305.

Liebenberg WH. Posterior composite resin restorations: operative innovations. **Pract Periodontics Aesthet Dent.** 1996; 8(8): 769-78.

Li H, Burrow MF, Tyas MJ. The effect of thermocycling regimens on the nanoleakage of dentin bonding systems. **Dent Mater.** 2002; 18(3): 189-96.

Linde A. Dentin mineralization and the role of odontoblasts in calcium transport. **Connect Tissue Res.** 1995; 33(1-3): 163-70

Lucchese A, Pilolli GP, Petruzzi M, Crincoli V, Scivetti M, Favia G. Analysis of collagen distribution in human crown dentin by confocal laser scanning microscopy. **Ultrastruct Pathol.** 2008; 32(3): 107-11.

Maciel KT, Carvalho RM, Ringle RD, Preston CD, Russell CM, Pashley DH. The effects of acetone, ethanol, HEMA, and air on the stiffness of human decalcified dentin matrix. **J Dent Res.** 1996; 75(11):1851-8.

Maniatopoulos C, Smith DC. A scanning electron microscopic study of the odontoblast process in human coronal dentine. **Arch Oral Biol.** 1983; 28(8): 701-10.

Marquezini JRL, Pereira LCG, Carvalho RM, Tay FR, Pashley DH. Effects of pre-etching on the durability of bond strengths of self-etching adhesive to ground enamel. **J Dent Res.** 2003; 82(Sp IssB): 120, Abstr.# 862.

Marshall GW Jr. Dentin: microstructure and characterization. **Quintessence Int.** 1993; 24(9): 606-17. (Review)

Marshall GW Jr, Marshall SJ, Kinney JH, Balooch M. The dentin substrate: structure and properties related to bonding. **J Dent.** 1997; 25(6): 441-58. (Review).

Mehl A, Hickel R, Kunzelmann KH. Physical properties and gap formation of light-cured composites with and without 'softstart-polymerization'. **J Dent.** 1997; 25(3-4): 321-30.

Michael G & Fench H. Basic Characteristics of AEROSIL®. **Technical Bulletin Pigments** - Number. 11. 4ed. Frankfurt: Degussa AG; 1993: 5-80.

Mitra SB, Wu D, Holmes BN. An application of nanotechnology in advanced dental materials. **J Am Dent Assoc.** 2003; 134(10): 1382-90.

Mjör IA, Nordahl I. The density and branching of dentinal tubules in human teeth. **Arch Oral Biol.** 1996; 41(5): 401-12.

Moghadas MJ, Ghavamnasiri M, Alaghemand H, Goharian R, Salari T. Comparison of amalgam dentin bond strength with different bonding agents. **Journal of Mashhad Dental School.** 2007; 31(Special Issue): 35-38.

Montes MA, de Goes MF, da Cunha MR, Soares AB. A morphological and tensile bond strength evaluation of an unfilled adhesive with low-viscosity composites and a filled adhesive in one and two coats. **J Dent.** 2001; 29(6): 435-41.

Munksgaard EC, Irie M, Asmussen E. Dentin-polymer bond promoted by Gluma and various resins. **J Dent Res.** 1985a; 64(12): 1409-11.

Munksgaard EC, Itoh K, Asmussen E, Jörgensen KD. Effect of combining dentin bonding agents. **Scand J Dent Res.** 1985b; 93(4): 377-80.

Nakabayashi N, Kojima K, Masuhara E. The promotion of adhesion by infiltration of monomers into tooth substrates. **J Biomed Mater Res** 1982; 16: 265-73.

Nakabayashi N, Nakamura M, Yasuda N. Hybrid layer as a dentin-bonding mechanism. **Esthet Dent.** 1991; 3(4): 133-8.

Nakabayashi N, Pashley DH. Hybridization of dental hard tissue. Tokyo: **Quintessence Publishing Co.** 1998: 8-9.

Nakabayashi N, Saimi Y. Bonding to intact dentin. **J Dent Res.** 1996; 75(9): 1706-15.

Nicolau DE, Phillimore J, Cross R, Nicolau DV. Nanotechnology of the crossroads: the hard or the soft way? **Microelectronics Journal** 2000; 31: 611-16p.

Nguyen T, Bentz D, Byrd E. Method for measuring water diffusion in a coating applied to a substrate. **J Coat Technol.** 1995; 67: 37-46.

Nguyen T, Hubbard J, Pomersheim JM. Unified model for the degradation of organic coatings on steel in a neutral electrolyte. **J Coat Technol.** 1996; 68: 45-56.

Nunes MF, Swift EJ, Perdigão J. Effects of adhesive composition on microtensile bond strength to human dentin. **Am J Dent.** 2001; 14(6): 340-3.

Olsson S, Oilo G, Adamczak E. The structure of dentin surfaces exposed for bond strength measurements. **Scand J Dent Res.** 1993; 101(3): 180-4.

Pagavino G, Pace R, Pierleoni P. The lamina limitans. Its scanning electron microscopic aspects. **Minerva Stomatol.** 1991; 40(7-8): 455-65.

Pashley DH, Ciucchi B, Sano H, Horner JA. Permeability of denting to adhesive resins. **Quintessence Int.** 1993; 24: 618-31.

Pashley DH, Michelich V, Kehl T. Dentin permeability: Effects of smear layer removal. **J Prosthet Dent.** 1981; 46: 531-37.

Pashley DH, Tao L, Boyd L, King GE, Horner JA. Scanning electron microscopy of the substructure of smear layers in human dentine. **Arch Oral Biol.** 1988; 33(4): 265-70.

Pashley DH, Tay FR. Aggressiveness of contemporary self-etching adhesives. Part II: etching effects on unground enamel. **Dent Mater.** 2001; 17(5): 430-44.

Pashley DH. The effects of acid etching on the pulpodentin complex. **Oper Dent.** 1992; 17(6): 229-42.

Pashley EL, Talman R, Horner JA, Pashley DH. Permeability of normal versus carious dentin. **Endod Dent Traumatol.** 1991; 7(5): 207-11.

Paul SJ, Leach M, Rueggeberg FA, Pashley DH. Effect of water content on the physical properties of model dentine primer and bonding resins. **J Dent.** 1999; 27(3): 209-14.

Perdigão J, Lambrechts P, van Meerbeek B, Tomé AR, Vanherle G, Lopes AB. Morphological field emission-SEM study of the effect of six phosphoric acid etching agents on human dentin. **Dent Mater.** 1996; 12(4): 262-71.

Perdigão J, Lopes L, Lambrechts P, Leitao J, Van Meerbeek B, Vanherle G. Effects of a self-etching primer on enamel shear bond strengths and SEM morphology. [published erratum appears in **Am J Dent** 1997; 10(4): 183]. **Am J Dent.** 1997; 10(3): 141-6.

Prager MC. Using flowable composites in direct posterior restorations. **Dent Today.** 1997 ; 16(7): 62, 64, 66-9.

Rada RE. The versatility of flowable composites. **Dent Today.** 1998; 17(4): 78-83.

Reed M.A. Molecular electronics: current status and future prospects. **FED.** 2000; 11(1): 57-66.

Reis AF, Oliveira MT, Giannini M, De Goes MF, Rueggeberg FA. The effect of organic solvents on one bottles' bond strength to enamel and dentin. **Oper Dent.** 2003; 28(6): 700-6.

Retief DH. The mechanical bond. **Int Dent J.** 1978; 28(1): 18-27.

Retief DH, Busscher HJ, de Boer P, Jangebloed WL, Arends J. A laboratory evaluation of three etching solutions. **Dent Mater** 1986; 2: 202-06.

Reynolds GH. Forward to the future: nanotechnology and regulatory policy. **Briefing of the Pacific Research Institute**, 2002. Disponível em <http://www.pacificresearch.org>.

Rocco M.C. Reviews of national research programs in nanoparticle and nanotechnology research in the U.S.A. **Journal of Aerosol Science** 1995; 32(5/6): 749-60p.

Roco MC, Williams RS, Alivisatos. P. Nanotechnology Research Directions: Vision for Nanotechnology Research and Development in the Next Decade, NSTC/CT/IWGN Workshop Report, September, 1999. Disponível em <http://itri.loyola.edu/nano/IWGN.Research.Directions/>.

Roco MC, Williams RS. Societal implications of nanoscience and nanotechnology. **NSET Workshop Report**. Edited by National Science Foundation, 2001.

Rueggeberg FA, Margeson DH. The effect of oxygen inhibition on an unfilled/filled composite system. **J Dent Res.** 1990; 69(10): 1652-8.

Sano H, Takatsu T, Ciucchi B, Horner JA, Matthews WG, Pashley DH. Nanoleakage: leakage within the hybrid layer. **Oper Dent.** 1995; 20(1): 18-25.

Sano H, Yoshikawa T, Pereira PN, Kanemura N, Morigami M, Tagami J, Pashley DH. Long-term durability of dentin bonds made with a self-etching primer, in vivo. **J Dent Res.** 1999; 78(4): 906-11.

Saravana KR, Vijayalakshmi R. Nanotechnology in dentistry. **Indian J Dent Res.** 2006; 17(2): 62-5.

Schulz W. Crafting a national nanotechnology effort. **Chem Eng News** 2000; 78(42): 39-42.

Seeman NC. DNA nanotechnology. **Materials Today**, 2003, 24-9p.

Sharawy M, Yaeger JA. Esmalte. In: Bhaskar SN. **Histologia e Embriologia de Urban.** São Paulo: Artes Médicas; 1989. v.10, cap. 6, p 51-110.

Sigal MJ, Aubin JE, Ten Cate AR. An immunocytochemical study of the human odontoblast process using antibodies against tubulin, actin, and vimentin. **J Dent Res.** 1985; 64(12): 1348-55.

Souza JC. **Os pensadores pré-socráticos: fragmentos, doxologia e comentários.** Coleção os pensadores. Ed. Nova cultural, São Paulo, 2000.

Strickland J & Bonsor K. **How nanotechnology works.** 2007.[acesso 05/2006]. Disponível em <http://science.howstuffworks.com/nanotechnology2.btm>.

Swift EJ Jr, Perdigão J, Heymann HO, Wilder AD Jr, Bayne SC, May KN Jr, Sturdevant JR, Roberson TM. Eighteen-month clinical evaluation of a filled and unfilled dentin adhesive. **J Dent.** 2001; 29(1): 1-6.

Swift EJ Jr, Triolo PT Jr, Barkmeier WW, Bird JL, Bounds SJ. Effect of low-viscosity resins on the performance of dental adhesives. **Am J Dent.** 1996; 9(3): 100-4. Erratum in: Am J Dent 1996; 9(4): following 179.

Tagami J, Hosoda H, Burrow MF, Nakajima M. Effect of aging and caries on dentin permeability. **Proc Finn Dent Soc.** 1992; 88 Suppl 1:149-54.

Tagami J, Tao L, Pashley DH. Correlation among dentin depth, permeability, and bond strength of adhesive resins. **Dent Mater.** 1990; 6(1): 45-50.

Tanaka J, Ishikawa K, Yatani H, Yamashita A, Suzuki K. Correlation of dentin bond durability with water absorption of bonding layer. **Dent Mater J.** 1999; 18(1): 11-8.

Taniguchi N. The development of achievable machining accuracy: from current status in, and future trends of, ultraprecision machining and ultrafine materials processing. **Annals of the CIRP**, 32(2), 1983, 573p.

Taniguchi N., (ed). Nanotechnology: integrated processing systems for ultra-precision and ultra-fine products. **Oxford University Press: Oxford**, 1996.

Tao L, Pashely DH, Boyd L. Effect of different types of smear layers on dentin and enamel shear bond strengths. **Dent Mater.** 1988; 4(4): 208-16.

Tay FR, Gwinnett AJ, Pang KM, Wei SH. Resin permeation into acid-conditioned, moist, and dry dentin: a paradigm using water-free adhesive primers. **J Dent Res.** 1996c; 75(4): 1034-44.

Tay FR, Gwinnett AJ, Pang KM, Wei SH. Structural evidence of a sealed tissue interface with a total-etch wet-bonding technique in vivo. **J Dent Res.** 1994a; 73(3): 629-36.

Tay FR, Gwinnett AJ, Wei SH. The overwet phenomenon: an optical, micromorphological study of surface moisture in the acid-conditioned, resin-dentin interface. **Am J Dent.** 1996b; 9(1): 43-8.

Tay FR, Gwinnett JA, Wei SH. Micromorphological spectrum from overdrying to overwetting acid-conditioned dentin in water-free acetone-based, single-bottle primer/adhesives. **Dent Mater.** 1996a; 12(4): 236-44.

Tay FR, Kwong SM, Itthagarun A, King NM, Yip HK, Moulding KM, Pashley DH. Bonding of a self-etching primer to non-carious cervical sclerotic dentin: interfacial ultrastructure and microtensile bond strength evaluation. **J Adhes Dent.** 2000; 2(1): 9-28.

Tay FR, Moulding KM, Pashley DH. Distribution of nanofillers from a simplified-step adhesive in acid-conditioned dentin. **J Adhes Dent.** 1999; 1(2): 103-17.

Tay FR, Pang KM, Gwinnett AJ, Wei SHY. A Scanning electron microscopic study of the extent of resin penetration into human coronal dentin following a total etch technique, *in vivo*. **Cell Mater** 1994b; 4: 317-29.

Tay FR, Pashley DH. Aggressiveness of contemporary self-etching systems. I: Depth of penetration beyond dentin smear layers. **Dent Mater.** 2001; 17(4): 296-308.

Tay FR, Pashley DH. Water treeing--a potential mechanism for degradation of dentin adhesives. **Am J Dent.** 2003; 16(1): 6-12.

Tay FR, Pashley DH, Yiu C, Cheong C, Hashimoto M, Itou K, Yoshiyama M, King NM. Nanoleakage types and potential implications: evidence from unfilled and filled adhesives with the same resin composition. **Am J Dent.** 2004; 17(3): 182-90.

Tay FR, Pashley DH, Yoshiyama M. Two modes of nanoleakage expression in single-step adhesives. **J Dent Res.** 2002; 81(7): 472-6.

Ten Cate AR. **Oral Histology:** Development, Structure and Function. 4. ed. St. Louis: Mosby; 1994. p. 169-217.

Thomas HF. The lamina limitans of human dentinal tubules. **J Dent Res.** 1984 ; 63(8):1064-6.

Thomas HF. The extent of the odontoblast process in human dentin. **J Dent Res.** 1979; 58(Spec Issue D): 2207-18.

Toida T, Watanabe A, Nakabayashi N. Effect of smear layer on bonding to dentin prepared with bur. **J Jpn Dent Mater** 1995, 14: 109-16.

Toma HE & Araki K. Nanotecnologia: O gigantesco e promissor mundo muito pequeno. **Ciência Hoje.** 2005, 37(217): 24-31. [acesso 06/2006]. Disponível em <http://cienciahoje.uol.com.br/3340>.

Tyldesley WR. The mechanical properties of human enamel and dentine. **Br Dent J.** 1950: 269-278.

Unterbrink GL, Liebenberg WH. Flowable resin composites as "filled adhesives": literature review and clinical recommendations. **Quintessence Int.** 1999; 30(4): 249-57. (Review).

Van Meerbeek B, Conn LJ Jr, Duke ES, Eick JD, Robinson SJ, Guerrero D. Correlative transmission electron microscopy examination of nondemineralized and demineralized resin-dentin interfaces formed by two dentin adhesive systems. **J Dent Res.** 1996; 75(3): 879-88.

Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, Van Landuyt K, Lambrechts P, Vanherle G. Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. **Oper Dent.** 2003; 28(3):215-35.

Van Meerbeek B, Dhem A, Goret-Nicaise M, Braen M, Lambrechts P, Vanherle G. Comparative SEM and TEM examination of the ultrastructure of the resin-dentin interdiffusion zone. **J Dent Res** 1993a; 72: 495-501.

Van Meerbeek B, Inokoshi S, Braem M, Lambrechts P, Vanherle G. Morphological aspects of the resin-dentin interdiffusion zone with different dentin adhesive systems, **J Dent Res.** 1992; 71: 1530-1540.

Van Meerbeek B, Vargas S, Inoue S, Yoshida Y, Peumans M, Lambrechts P, Vanherle G. Adhesives and cements to promote preservation dentistry. **Oper Dent.** 2001; (Suppl 6): 119-44.

Van Meerbeek B, Willems G, Celis JP, Roos JR, Braem M, Lambrechts P, Vanherle G. Assessment by nano-indentation of the hardness and elasticity of the resin-dentin bonding area. **J Dent Res.** 1993b; 72(10): 1434-42.

Van Meerbeek B, Yoshida Y, Lambrechts P, Vanherle G, Duke ES, Eick JD, Robinson SJ. A TEM study of two water-based adhesive systems bonded to dry and wet dentin. **J Dent Res.** 1998; 77(1): 50-9.

Van Meerbeek B, Yoshida Y, Snauwaert J, Helleman L, Lambrechts P, Vanherle G, Wakasa K, Pashley DH. Hybridization effectiveness of a two-step versus a three-step smear layer removing adhesive system examined correlatively by TEM and AFM. **J Adhes Dent.** 1999; 1(1): 7-23.

Wakefield CW, Draughn RA, Sneed WD, Davis TN. Shear bond strengths of six bonding systems using the pushout method of in vitro testing. **Oper Dent.** 1998; 23(2): 69-76.

Watanabe I, Nakabayashi N, Pashley DH. Bonding to ground dentin by a phenyl-P self-etching primer. **J Dent Res.** 1994a; 73(6): 1212-20.

Watanabe I, Nakabayashi N. Bonding durability of photocured phenyl-P in TEGDMA to smear layer-retained bovine dentin. **Quintessence Int.** 1993; 24(5): 335-42.

Watanabe I, Nikaido T, Nakabayashi N. Effect of adhesion promoting monomers on adhesion to ground dentin. **Shika Zairyo Kikai.** 1990; 9(6): 888-93.

Watanabe I, Saimi Y, Nakabayashi N. Effect of smear layer on ground dentin – Relationship between condition and tensile bond strength. **J Jpn Dent Mater.** 1994b; 13: 101-108.

Watanabe I. Photocured bonding agents to ground dentin. **J Jpn Dent Mater.** 1992; 11: 955-73.

Weiner S, Veis A, Beniash E, Arad T, Dillon JW, Sabsay B, Siddiqui F. Peritubular dentin formation: crystal organization and the macromolecular constituents in human teeth. **J Struct Biol.** 1999; 126(1): 27-41.

Whitesides GM, Christopher Love J. The art of building small. **Sci Am.** 2001; 285(3): 38-47. (Review). Erratum in: Sci Am 2002; 286(1): 10.

Wilson MA, Kannangara K, Smith G, Simmons M, Raguse B. 2002. **Nanotechnology: basic science and emerging technologies.** Sidney: UNSW, 2002.





Yamada T, Nakamura K, Iwaku M, Fusayama T. The extent of the odontoblast process in normal and carious human dentin. **J Dent Res.** 1983; 62(7): 798-802.

Yamamoto K, Shiraishi M, Yoshikawa K, Inoue M. Bonding durability of F⁻ -releasing adhesive systems to enamel and dentin. **Proceedings of the First International Congress on Adhesive Dentistry.** 2002. Tokyo, Japan. J. Tagami ed. Abstract # P-119: 420.

Zhang Y, Agee K, Nör J, Carvalho R, Sachar B, Russell C, Pashley D. Effects of acid-etching on the tensile properties of demineralized dentin matrix. **Dent Mater.** 1998; 14(3):222-8.

ANEXOS

ANEXO 1

	COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS	
CERTIFICADO		
<p>O Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-UNICAMP certifica que o projeto de pesquisa "Interação e eficiência de sistemas adesivos contendo nanopartículas de carga na resistência de união com a dentina", protocolo nº 073/2007, dos pesquisadores VINÍCIUS DI HIPÓLITO e MARIO FERNANDO DE GOES, satisfaz as exigências do Conselho Nacional de Saúde – Ministério da Saúde para as pesquisas em seres humanos e foi aprovado por este comitê em 10/10/2007.</p>		
<p>The Ethics Committee in Research of the School of Dentistry of Piracicaba - State University of Campinas, certify that the project "Interaction morphology and bond strength of nanofilled adhesives to dentin", register number 073/2007, of VINÍCIUS DI HIPÓLITO and MARIO FERNANDO DE GOES, comply with the recommendations of the National Health Council – Ministry of Health of Brazil for research in human subjects and therefore was approved by this committee at 10/10/2007.</p>		
 Prof. Cíntia Pereira Machado Tabchoury Secretária CEP/FOP/UNICAMP	 Prof. Jacks Jorge Júnior Coordenador CEP/FOP/UNICAMP	
<p><small>Nota: O título do protocolo aparece como fornecido pelos pesquisadores, sem qualquer edição. Notice: The title of the project appears as provided by the authors, without editing.</small></p>		

ANEXO 2

```
*****
*          SANEST - SISTEMA DE ANALISE ESTATISTICA          *
*   Autores: Elio Paulo Zonta - Amauri Almeida Machado   *
*                   Tiemi Matsuo                         *
*          CALCULO DE ESTATISTICAS - ARQUIVO: VINI1        *
*****
```

CODIGO DO PROJETO: TESE
 RESPONSAVEL: VINICIUS DI HIPOLIT
 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL: MICROTRACAO
 OBSERVACOES NAO TRANSFORMADAS

ANALISE FIXANDO O NIVEL **SINGLBON** DO FATOR MATERIAL

ESTATISTICAS	MPA
NUM. OBS.	23
VALOR MIN.	25.150000
VALOR MAX.	57.910000
AMPLITUDE	32.760002
TOTAL	797.669980
MEDIA	34.681305
VARIANCIA	58.045990
D. PADRAO	7.618793
D.P.MEDIA	1.588628
COEF.VAR.%	21.968010
COEF.ASSIM.	1.352435
COEF. CURT.	4.969240
MEDIANA	32.529999
QUARTIL INF	30.260000
QUARTIL SUP	38.730000
IC 5% L.S.	37.969765
IC 5% L.I.	31.392845
IC 1% L.S.	39.161236
IC 1% L.I.	30.201374

ANALISE FIXANDO O NIVEL **PRIMBONT** DO FATOR MATERIAL

ESTATISTICAS	MPA
NUM. OBS.	23
VALOR MIN.	10.160000
VALOR MAX.	39.750000
AMPLITUDE	29.590000
TOTAL	657.679990
MEDIA	28.594782
VARIANCIA	50.227673
D. PADRAO	7.087149
D.P.MEDIA	1.477773
COEF.VAR.%	24.784761
COEF.ASSIM.	-0.719517
COEF. CURT.	3.318888
MEDIANA	29.690001
QUARTIL INF	23.260000
QUARTIL SUP	32.480000
IC 5% L.S.	31.653770
IC 5% L.I.	25.535793
IC 1% L.S.	32.762100
IC 1% L.I.	24.427464

```

*****
*          SANEST - SISTEMA DE ANALISE ESTATISTICA          *
*  Autores: Elio Paulo Zonta - Amauri Almeida Machado      *
*                  Tiemi Matsuo                             *
*          CALCULO DE ESTATISTICAS - ARQUIVO: VINI1          *
*****

```

```

          CODIGO DO PROJETO: TESE
          RESPONSAVEL: VINICIUS DI HIPOLIT
          DELINEAMENTO EXPERIMENTAL: MICROTRACAO
          OBSERVACOES NAO TRANSFORMADAS

```

ANALISE FIXANDO O NIVEL **OPTISOLO** DO FATOR MATERIAL

ESTATISTICAS	MPA
NUM. OBS.	23
VALOR MIN.	21.560000
VALOR MAX.	47.270000
AMPLITUDE	25.710001
TOTAL	766.810000
MEDIA	33.339565
VARIANCIA	31.842127
D. PADRAO	5.642882
D.P.MEDIA	1.176622
COEF.VAR. %	16.925482
COEF.ASSIM.	0.628970
COEF. CURT.	3.642224
MEDIANA	32.990002
QUARTIL INF	29.719999
QUARTIL SUP	35.830002
IC 5% L.S.	35.775173
IC 5% L.I.	30.903957
IC 1% L.S.	36.657639
IC 1% L.I.	30.021490

ANALISE FIXANDO O NIVEL **SINBOND2** DO FATOR MATERIAL

ESTATISTICAS	MPA
NUM. OBS.	25
VALOR MIN.	21.920000
VALOR MAX.	64.650002
AMPLITUDE	42.730002
TOTAL	1066.189940
MEDIA	42.640651
VARIANCIA	130.862045
D. PADRAO	11.449495
D.P.MEDIA	2.287899
COEF.VAR. %	26.823303
COEF.ASSIM.	0.046561
COEF. CURT.	2.047454
MEDIANA	42.730000
QUARTIL INF	31.975000
QUARTIL SUP	52.779999
IC 5% L.S.	47.360672
IC 5% L.I.	37.934525
IC 1% L.S.	49.053715
IC 1% L.I.	36.241482

```

*****
*      SANEST - SISTEMA DE ANALISE ESTATISTICA      *
*      Autores: Elio Paulo Zonta - Amauri Almeida Machado *
*              Tiemi Matsuo                             *
*      ANALISE DA VARIÁVEL MPA - ARQUIVO: VINI1      *
*****

```

CODIGO DO PROJETO: TESE

RESPONSÁVEL: VINICIUS DI HIPOLIT

DELINEAMENTO EXPERIMENTAL: MICROTRAÇÃO

OBSERVAÇÕES NÃO TRANSFORMADAS

NOME DOS FATORES

```

-----
FATOR      NOME
-----
A          MATERIAL
-----

```

QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA

CAUSAS DA VARIACAO	G.L.	S.Q.	Q.M.	VALOR F	PROB.>F
MATERIAL	3	2470.7133992	823.5711331	11.9081	0.00002
RESIDUO	90	6224.4591361	69.1606571		
TOTAL	93	8695.1725353			

MEDIA GERAL = 34.981915

COEFICIENTE DE VARIACAO = 23.773 %

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE MATERIAL

NUM.ORDEN	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	4	SINBOND2	25	42.645601	42.645601	a	A
2	1	SINGLBON	23	34.681304	34.681304	b	B
3	3	OPTISOLO	23	33.339562	33.339562	b	B
4	2	PRIMBONT	23	28.594785	28.594785	b	B

MÉDIAS SEGUIDAS POR LETRAS DISTINTAS DIFEREM ENTRE SI AO NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA INDICADO